

**Enzymaktivitätsuntersuchungen in
Organlyophilisaten und Beeinflussung
von Serumenzymaktivitäten und
Blutwerten durch Verabreichung
zytoplasmatischer Substanzen
beim Hund.**

Heinz Strobel

1982

Aus der Klinik für Innere Krankheiten der Tiere
Lehrstuhl für Spezielle Pathologie und Therapie und
Gerichtliche Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät

Vorstand: Prof.Dr.W.Kraft

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof.Dr.H.Kraft

Enzymaktivitätsuntersuchungen in Organlyophilisaten
und Beeinflussung von Serumenzymaktivitäten und Blut-
werten durch Verabreichung zytoplasmatischer Substan-
zen beim Hund.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Heinz Strobel
aus
Günzburg

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof.Dr.G.Terplan
Referent:	Prof.Dr.H.Kraft
Korreferent:	Prof.Dr.I.Rüsse

Tag der Promotion: 26.Februar 1982



I N H A L T

1.	Einleitung	3
2.	Literaturübersicht	5
2.1.	Die zytoplasmatische Therapie	5
2.2.	Enzyme und meßbare Enzymaktivitäten	13
3.	Eigene Untersuchungen	20
3.1.	Enzymaktivitätsmessungen in Trocken- substanzen	20
3.1.1.	Material	20
3.1.2.	Methode	21
3.1.3.	Ergebnisse	23
3.2.	Serumenzymaktivitäten und Blutwerte nach Applikation zytoplasmatischer Substanzen	35
3.2.1.	Material	35
3.2.2.	Methode	35
3.2.3.	Ergebnisse	38
3.3.	Serumenzymaktivitätsmessungen nach ex- perimentellem Muskeltrauma bei Hunden	49
3.3.1.	Material	49
3.3.2.	Methode	49
3.3.3.	Ergebnisse	51
4.	Diskussion	61
4.1.	Enzymaktivitätsmessungen in Trocken- substanzen	61
4.2.	Serumenzymaktivitäten und Blutwerte nach Applikation zytoplasmatischer Substanzen	72
4.3.	Serumenzymaktivitäten nach experimentel- lem Muskeltrauma bei Hunden	76
5.	Schluß	80
6.	Zusammenfassung - Summary	82
7.	Literaturverzeichnis	84

1. EINLEITUNG

In den letzten Jahren stieg auch in der Tiermedizin das Interesse an den sog. biologischen Therapieformen, die, von der Schulmedizin als Außenseitermethoden betrachtet, doch in zunehmendem Maße Eingang in Lehre und Praxis finden.

Sei es die Aufgabe, Krankheiten zu heilen, für die die klassische Medizin bislang unbefriedigende Therapieformen anbietet, sei es das zunehmende Problembewußtsein gegenüber Nebenwirkungen, Wirkungsverlusten, Sensibilisierungen durch die üblichen Chemotherapeutika, das sich immer stärker in Öffentlichkeit und Arzneimittelgesetzgebung manifestiert, seien es andere Gesichtspunkte, die Mediziner veranlassen, auf Gebieten zu arbeiten, die bislang nicht Bestandteil der Schulmedizin waren - als sicher darf gelten, daß jede Methode, die aufgrund empirischer Hinweise geeignet scheint, Krankheiten zu lindern oder zu heilen, Gegenstand der medizinischen Forschung sein muß.

Um in der Vielfalt der Therapieformen die Spreu vom Weizen zu trennen, ist sicher nicht der von Vorurteilen behaftete Meinungsstreit verschiedener Schulen geeignet, sondern lediglich die wissenschaftliche Arbeit.

Eines der therapeutischen Konzepte, das immer wieder Gegenstand sachlicher und unsachlicher Diskussion ist, stellt die von THEURER entwickelte zytoplasmatische Therapie mit makromolekularen Organextrakten dar. Ausgehend von den Thesen der Zellulärtherapie (43) entwickelte THEURER, aufbauend auf die Forschungsergebnisse der Biochemie, Molekularbiologie, Virologie

Immunologie und experimentellen Genetik (61) ein Verfahren, bei dem durch Verabreichung makromolekularer, nicht denaturierter Zellbestandteile die Biosynthese körpereigener Substanzen beeinflusst werden soll. Dieses therapeutische Konzept, das mittels der Revitorgan - Arzneimittel seit langem Eingang in die medizinische und tiermedizinische Praxis gefunden hat, ist Gegenstand der Grundlagenforschung in den verschiedensten medizinischen Disziplinen wie der Immunologie, Onkologie, Geriatrie etc.. Bislang konnten allerdings weder das gesamte Wirkungsspektrum, noch die verschiedenen Wirkungsmechanismen ausreichend geklärt werden.

Die vorliegende Arbeit soll zur Klärung einiger Details im Rahmen der angedeuteten breiten Fragestellung der Grundlagenforschung der zytoplasmatischen Therapie mit makromolekularen Organextrakten beitragen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. DIE ZYTOPLASMATISCHE THERAPIE

Bei der zytoplasmatischen Therapie handelt es sich um eine Therapie mit makromolekularen, nicht denaturierten, überwiegend organspezifischen, antigenen bzw. haptenen Zellbestandteilen von Foeten und jungen Tieren, daneben aber auch organunspezifischen Bestandteilen und Regulationsstoffen (61).

Nach der Begriffsbestimmung von ROLLE, MAYR, E.A. (48) sind zytoplasmatische Präparate daher den Naturheilmitteln zuzuordnen, soweit es sich nicht um Kombinationspräparate mit Chemotherapeutika (61) handelt. ROLLE, MAYR, E.A. (51) verstehen unter Naturheilmitteln allopathische Arzneimittel, die ausschließlich Mehrstoffgemische natürlicher Herkunft enthalten und grenzen sie damit von homöopathischen Mitteln, Synthetika und Reinstoffisolaten ab. Neben Mitteln pflanzlicher, mikrobieller und mineralischer Herkunft zählen sie dazu auch Stoffe gemäß § 3,3 des Arzneimittelgesetzes, nämlich " Tierkörper, auch lebende Tiere, sowie Körperteile und Stoffwechselprodukte von Mensch oder Tier in bearbeitetem oder unbearbeitetem Zustand "(2).

Mißverständliche Bezeichnungen für zytoplasmatische Zubereitungen (z.B. die Abkürzung D anstatt Dil. für Verdünnungen von Revitorgan-Präparaten siehe 62) implizieren eine Verwandtschaft zur Homöopathie, die nach HAPKE (21) in keiner Weise gegeben ist.

Im Unterschied zur Frisch- und Trockenzelltherapie werden bei der zytoplasmatischen Therapie " ... keine morphologisch und strukturell erhaltenen Gewebezellen bzw. Gewebefragmente verwendet ... "(50).

Laut RÜSSE und H.KRAFT ist ihre biologische Wirksamkeit nachgewiesen; die Stellungnahme des wissenschaftlichen Beirats der Bundesärztekammer zur sogenannten Zellulärtherapie (9) trifft für die zytoplasmatische Therapie nicht zu.

Von Verfahren der unspezifischen Reiztherapie bzw. unspezifischen Eiweißtherapie unterscheidet sich die zytoplasmatische Therapie durch organspezifische und organotrope Wirkungen, wie sie u.a. BYRNE (11) und AXMANN (3) nachgewiesen haben.

Als Ausgangsmaterial für die Herstellung zytoplasmatischer Präparate werden frische Organe von Foeten und Jungtieren (Rind, Schaf, Pferd, Schwein), humanes Nabelstrang- und Hirngewebe verwendet. Enzymatische Autolyse wird durch Schockgefrieren in flüssigem Stickstoff (-196°C) verhindert. Das Material wird in gekühlten Møhlen zerkleinert, gefriergetrocknet und durch ein spezielles Verfahren (DBP 1090821) im Vakuum unter Einwirkung von Säuredämpfen einer schonenden, kontrollierten Hydrolyse unterzogen. Das so gewonnene Lyophilisat dient zur Herstellung der Revitorgan - Präparate der Firma vitOrgan, Dr. Karl Theurer GmbH u. Co KG Ostfildern. (44, 60, 61). Diese Zubereitungen zytoplasmatischer Substanzen stehen in Form von Trockensubstanzen (a 15 mg Organlyophilisat) zur Verfügung, die zur subkutanen oder intramuskulären Injektion mit 2 ml Ringerlösung (Lösungsmittel I), wahlweise mit Aluminiumhydroxid- und Kieselsäurezusatz (Lösungsmittel II), oder Laurylnatriumsulfatzusatz (Lösungsmittel III) gelöst bzw. suspendiert werden. Die Trockensubstanzen dienen als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Dilutionen nach Abtrennung korpuskulärer Elemente, die in Konzentrationen von 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-12} , 10^{-17} (Stärke III, II, I, 0) zur Verfügung stehen.

Neben Zubereitungen einzelner Organe von Foeten, Jungtieren oder Foeten und Jungtieren gemischt, werden auch Organmischungen unterschiedlicher Herkunft verwendet. (61). In den nach dem oben beschriebenen Verfahren hergestellten Trockensubstanzen sind sämtliche Zellbestandteile incl. Kern enthalten (61). Bis auf einen abzentrifugierbaren Teil korpuskulärer Zellelemente liegen diese in nicht denaturierter, makromolekularer, löslicher Form vor (20). Die Partikelgröße der Eiweißmoleküle wird durch das Hydrolyseverfahren erniedrigt, deren Löslichkeit erhöht (47). Der Anteil an löslichem Protein beträgt bis zu 24 % gegenüber 6,2 % in Frischgeweben (61).

Bei der Formulierung von Revitorgan - Präparaten werden homologe Organe verschiedener Tierarten, männlicher und weiblicher Individuen gemischt, um so die Einzeldosen art- bzw. individualspezifischer Komponenten gering zu halten (61).

Sensibilisierungerscheinungen im Sinne anaphylaktischer oder anaphylaktoider Reaktionen sind nach Angaben des Herstellers vorallem nach wiederholter Applikation von Trockensubstanzen nicht auszuschließen (61), wurden jedoch nach übereinstimmenden Angaben von H.KRAFT (37) und HEUER (26) beim Tier in praxi noch nicht beobachtet.

Wie VON MAYERSBACH und LICHT (39) zeigen konnten, ist trotz der nicht erhaltenen Artpezifität die Organspezifität der Zellbestandteile erhalten und durch immunologische Methoden nachweisbar. Die Präparate wirken je nach Dosierung immunogen, tolerogen, oder bei bestehender krankheitsbedingter Organsensibilisierung immunsuppressiv (28,59).

Zur Prüfung der These, daß derartige Organlyophilisate in die Regulationsvorgänge des Zellstoffwechsels eingreifen, werden Zellkulturversuche von verschiedenen Autoren beschrieben:

D. JACHERTS, B. JACHERTS UND G. MAY (24) konnten die Inaktivierung zellfreier Synthesysteme mittels zytoplasmatischer Substanzen revidieren.

WRBA (64) weist die Erhöhung des Phosphateinbaus in homologe Gewebe mit Tracermethoden, SCHACHTEL (57) eine Erhöhung des Zellstoffwechsels von Bullensperma anhand der Atemkapazität nach.

WRBA UND GEIPEL (65) bestimmten auch die Stoffwechselaktivität von Walker- und Yoshida-Tumorexplantaten in Anwesenheit von Dilutionen maternalen, foetalen bzw. totaler Plazentapräparate und fanden eine deutliche Erhöhung des Zellstoffwechsels durch foetale Plazenta, eine Verringerung durch maternale Plazenta gegenüber den Kontrollen mit Placenta totalis.

WRBA UND LETNANSKY (37) konnten den Sauerstoffverbrauch von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen durch Zusätze von Rinderdezidua-Trockensubstanz steigern, den von normalen Leberzellen jedoch verringern.

ALTMANN UND WOTTOWA (1) studierten die Repairkapazität von Geweben unter der Wirkung von Placenta foetalis und konnten die semikonservative DNA-Synthese erhöhen.

PFAFFENHOLZ (46) erzielte durch Zusatz von Dilution 10^{-5} bis 10^{-9} g/ml Nebenniere zu diploiden menschlichen Zellkulturen eine Steigerung des Thymidineinbaus in DNA und eine Steigerung des Uridineinbaus in RNA, deren Effekt fast dem der Kontrollgruppe mit 10^{-2} IE/ml Gonadotropin entsprach. Der gleiche Autor konnte jedoch mit dem gleichen Verfahren heteroploide menschliche Amnionzellen, die tumorähnliches Verhalten zeigen, gegenüber der STH-Kontrollgruppe deutlich hemmen (45).

Umfangreiche Untersuchungen über die Beeinflussung körpereigener Abwehrmechanismen liegen von MAYR und BUSCHMANN vor: Sie fanden eine Steigerung der Phagozytoserate nach Verabreichung von Revitorgan Dil.Nr.65 10^{-3} g/ml und 10^{-6} g/ml durch Bestimmung des Phagozytoseindex nach Tuscheinjektion bei der Maus (10). Die gleichen Autoren erzielten bei der Überprüfung des gleichen Präparats bezüglich der Stimulation 19-S-hämolysinbildender Zellen in der Milz nach Verabreichung von Schafer erythrozyten konzentrationsabhängige Wirkungsunterschiede (10).

SORKIN konnte die zelluläre Immunität neugeborener Mäuse (58), MAYR die endogene Interferonsynthese beim Kaninchen durch zytöplasmatische Präparate stimulieren (40).

Da bei den nach dem THEURER'schen Verfahren hergestellten Organlyophilisaten zytöplasmatische Bestandteile nach Angaben des Herstellers in makromolekularer, nicht denaturierter, biologisch aktiver Form vorliegen (61), liegt der Schluß nahe, daß Hormone und Enzyme in funktionell erhaltenem Zustand nachweisbar sein müßten. RUSSE fand dies für die Trockensubstanz Nr.22(Hypopnyse) in Bezug auf LH bestätigt. Das untersuchte Präparat wies eine LH-Aktivität von 500 IE auf (51).

Enzymaktivitätsmessungen wurden von HEMPT durchgeführt (25). Während sie in Dilutionen, wenn überhaupt, so nur sehr geringe Enzymaktivitäten nachweisen konnten, ergaben die Messungen in den Trockensubstanzen Werte, die im allgemeinen im Bereich der physiologischen Serumenzymaktivitäten der Haustiere lagen. Allerdings traten sowohl zwischen den verschiedenen Chargen als auch innerhalb der einzelnen Chargen starke Schwankungen auf.

Neben den beschriebenen Versuchen liegen weitere tierexperimentelle Untersuchungen an verschiedenen Krankheitsmodellen vor.

LANGHANS (35) untersuchte die Wirkung von Revitorgan - Präparaten auf die Regenerationsfähigkeit des Hämatopoosesystems von Albinoratten nach Schädigung mittels Röntgen - Ganzkörperbestrahlung bzw. Endoxanverabreichung. Dabei konnte eine frühzeitigere Normalisierung des weißen Blutbilds bei den mit Trockensubstanz Nr. 39 (Knochenmark) behandelten Tieren gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe statistisch gesichert werden (32).

FISCHER (45) konnte die Sterblichkeitsrate von Ratten nach Intoxikation mit Phosphoröl, bzw. Tetrachlorkohlenstoff durch Applikation zytoplasmatischer Substanzen gegenüber den Lösungsmittelkontrollen deutlich erniedrigen, eine Erhöhung aber mit unspezifischen Reiztherapeutika erzielen.

WIGGE (63) untersuchte die Wirkung von Revitorgan-Präparaten auf Ratten bei gleichzeitiger Zufütterung von *Senecio vulgaris* über neun Wochen und verglich die Versuchsgruppe mit unbehandelten, sowie mit Yatren - Casein bzw. Omnadin behandelten Kontrollgruppen. Die pathologischen Veränderungen wurden klinisch, anhand der Bilirubinwerte im Harn, den Sterblichkeitsraten, sowie pathologisch - histologisch anhand von Leberschnittpräparaten objektiviert. Dabei waren sowohl der Grad der pathologischen Veränderungen als auch das Auftreten von Spätschäden in den Versuchsgruppen gegenüber den Kontrollgruppen deutlich geringer.

VON MAYERSBACH (38) konnte dosisabhängige Wirkungsunterschiede der Therapie mit Nieren - Trockensubstanz bei einer experimentell erzeugten Nephritis von Ratten anhand der Harneiweißgehalte sowie pathohistologisch objektivieren.

SAERS (52) beschreibt Therapieversuche einer mittels Methylthiouracil ausgelösten Hypothreose beim Kaninchen. Er kontrollierte den Verlauf anhand der Serumcholesterinspiegel und fand positive Abweichungen der mit Trockensubstanz Nr.30(Thyreoidea) behandelten Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren, die in zwei von fünf Versuchsreihen signifikant waren.

H.KRAFT (32) beschreibt die prophylaktische und therapeutische Wirkung von Dilution Nr.26(Leber) und Dilution Nr.55(Schleimhäute) bei Futterintoxikationen von Chinchillas.

SAMBRAUS (53) erzielte unterschiedliche Ergebnisse bei der Prophylaxe der calciphylaktisch bedingten Sklerodermie der Ratte in Abhängigkeit von der Versuchsanordnung und den verabreichten Präparaten.

Den Einsatz der zytoplasmatischen Therapie in der tiermedizinischen Praxis dokumentieren mehrere Autoren: HEUER (26), BARTHOLD (4), HAUSER (23), SCHLOSSAREK (55) und RONNEBERGER (49) berichten über die Behandlung chronisch rezidivierender und degenerativer Erkrankungen von Hund, Katze, Kleinsäugetern und Vögeln. Während es sich dabei vorwiegend um Fallbeschreibungen handelt, liegen umfangreiche klinische Studien über die Therapie dermatologischer, gynäkologischer und respiratorischer Erkrankungen bei Groß- und Kleintieren vor.

DREIER (12) behandelte endokrin bedingte Haarkleidveränderungen an 31 Hündinnen. Eine Normalisierung konnte in 24, eine Besserung in 5, kein Erfolg in 2 Fällen beobachtet werden.

EPSTEIN (14) berichtet über Behandlungserfolge bei 12 Hunden mit allergisch bedingten Dermatosen mittels Gegensensibilisierung und zytoplasmatischer Therapie.

HOPPE-SCHAUPP (27) objektiverte ihre Behandlungsergebnisse anhand von Intrakutanproben, die bei

10 sensibilisierten Hunden vor der Therapie stark positive, nachher nur noch einfach positive bis fragile Reaktion zeigten.

HEMPT (25) legt eine umfangreiche Kasuistik über die Behandlung von Hunden, die an Dermatosen, Pruritus und/oder Alopezie erkrankt waren, vor.

H. KRAFT (32) berichtet von der Behandlung des endokrin bedingten Fellbeißens beim Chinchilla. Besserung und Heilung traten bei der Verwendung von mehreren der untersuchten Präparate ein.

RÜSSE (51) unternahm Behandlungsversuche an Kühen mit gestörtem Puerperium. Uterusinvolution und Zyklus-anomalien konnten durch die Applikation von Lyophilisaten endokrin aktiver Organe beeinflusst werden.

MISSEL (41) beobachtete die postoperative Phase nach Ovariohysterektomie an 186 Hündinnen mit Pyometra. Dabei konnte eine deutliche Verbesserung der Heilungsquote in der mit Dilution Nr. 7 (Niere) behandelten Versuchsgruppe bei den prognostisch ungünstigen Fällen gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe erzielt werden.

NEITZEL (42) behandelte 53 Pferde mit subakuten bis chronischen respiratorischen Erkrankungen. Gute Ergebnisse wurden bei Erkrankungen der oberen Luftwege, schlechtere bei Beteiligung der Lunge erzielt.

Neben der Behandlung durch Injektion zytoplasmatischer Substanzen wurde von den genannten Autoren z.T. die sog. Gegsensensibilisierung (GS) nach THEURER zur Therapie verwendet. Dabei werden Verdünnungen einer aus Patientenblut und einem aluminiumhydroxid- und kieselsäurehaltigen Serum - Aktivator hergestellten Stammlösung in steigender Konzentration wiederholt intrakutan injiziert. Dieses Verfahren wird zur Ergänzung der zytoplasmatischen Therapie bei Autosensibilisierungsvorgängen im Verlauf chronischer Krankheitsbilder angewandt (61).

2.3. ENZYME UND MESSBARE ENZYMAKTIVITÄTEN

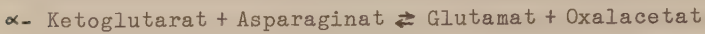
In der klinischen Diagnostik haben neben den Enzymen des exokrinen Pankreas vorallem die Serumenzymaktivitäten Bedeutung erlangt. BÜCHER (19) unterteilt diese im Blut nachweisbaren Enzyme nach ihrer Herkunft in die plasmaspezifischen Enzyme als funktionelle Blutbestandteile, und in die plasmaunspezifischen Enzyme, deren physiologischer Wirkungsbereich außerhalb des zirkulierenden Blutvolumens liegt. Letztere wiederum unterteilt er in Exkretenzyme und Zellenzyme, deren Aktivität im Serum unter physiologischen Bedingungen lediglich Ausdruck der Zellerneuerungsrate ist.

Enzyme - als reaktionsspezifische Katalysatorproteine zu definieren - liegen im Organismus vielfach in Form eines Multienzymkomplexes bzw. an subzelluläre Strukturen gebunden vor (8). Dies gilt vorallem für die Zellenzyme, die hinsichtlich ihrer intrazellulären Lokalisation weiter charakterisiert werden können. "So finden sich die Komponenten der Atmungskette an der inneren Mitochondrienmembran, die Enzyme des Zitronensäurezyklus in der flüssigen Mitochondrienmatrix, digestive Enzyme in den Lysosomen (22).

Neben der spezifischen intrazellulären Lokalisation der Zellenzyme ist vorallem deren organspezifisches Verteilungsmuster für Enzymaktivitätsmessungen an aufgeschlossenem Zellmaterial von Bedeutung. Für die klinische Interpretation von Serumenzymaktivitätsmessungen sind neben dem organspezifischen Verteilungsmuster jedoch die Mechanismen des Übertritts in den extrazellulären Flüssigkeitsraum ausschlaggebend. Im Folgenden seien kurz die wichtigsten biochemischen Parameter der untersuchten Enzyme beschrieben:

GOT (AST)

Die Glutamat - Oxalacetat - Transaminase (Aspartat - Aminotransferase) katalysiert folgende Reaktion (19):

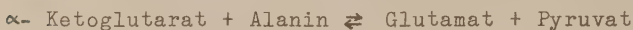


Intrazell. Lokalisation: Mitochondrien und Zytoplasma
Molekulargewicht: 78 000 - 90 000 (5)

Klin. Bedeutung: Kardio-, Hepatho-, und Myopathien (56)

GPT (ALT)

Die Glutamat - Pyruvat - Transaminase (Alanin - Amino-transferase) katalysiert folgende Reaktion (19):

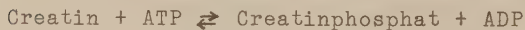


Intrazell. Lokalisation: Zytoplasma
Molekulargewicht: 115 000 (5)

Klin. Bedeutung: Hepathopathien (bes. Hund und Katze) (56)

CPK (CK)

Die Creatin - Phosphokinase (Creatin - Kinase) katalysiert folgende Reaktion (19):



Molekulargewicht: 81 000 (2 Untereinheiten) (5)

Klin. Bedeutung: Kardiopathien, Myopathien (56)

AP

Die Alkalische Phosphatase katalysiert die Spaltung und Synthese von Phosphorsäure - Mono - Estern (19).

Molekulargewicht: 100 000 (5)

Klin. Bedeutung: Osteopathien, Hepatopathien (56)

GLDH

Die Glutamat - Dehydrogenase katalysiert die Reaktion (19):



Intrazell. Lokalisation: Mitochondrien

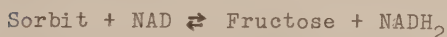
Molekulargewicht: 2 200 000 (8 Untereinheiten)

ca. 275 000 pro Untereinheit (5)

Klin. Bedeutung: Hepatopathien (56)

SDH

Die Sorbit - Dehydrogenase katalysiert die Reaktion (19):



Intrazelluläre Lokalisation: Zytoplasma

Klinische Bedeutung: Hepatopathien (56)

Entscheidend für die klinische Verwertbarkeit der Serumenzymaktivitäten ist deren Organspezifität. Wie die nachstehenden Tabellen deutlich machen, variieren die relativen Verteilungsmuster tierartlich. Die Vergleichbarkeit der Tabellen wird durch die Zusammenstellung verschiedener Arbeiten mehrerer Autoren beeinträchtigt. FLÜCKINGER (16) weist darauf hin, daß z.B. die verwendete Zerkleinerungsmethode, und damit der unterschiedliche Aufschluß der Mitochondrien die Vergleichbarkeit der Meßwerte beeinflussen kann. Eventuelle methodische Unterschiede der einzelnen Autoren dürften jedoch durch die Betrachtung der relativen Verteilungsmuster für die Zwecke dieser Arbeit unerheblich bleiben.

TABELLE I

Relative Organverteilung einiger Enzyme beim Schaf
nach KLEIH (31) :

	LEBER	HERZ	NIERE	SKELETTMUSKEL
GOT	36,6	100,0	21,7	44,7
GPT	16,4	100,0	37,7	67,6
GLDH	100,0	18,9	31,9	10,5

Relative Organverteilung einiger Enzyme beim Schwein
nach FLÜCKINGER (16):

	LEBER	HERZ	NIERE	SKELETTMUSKEL
GOT	46,6	100,0	32,8	43
GPT	33,4	48,9	100,0	18,0
CK	0,3	40,1	0,8	100,0
GLDH	100,0	14,8	18,7	2,8
SDH	100,0	1,3	29,5	0,6
AP	7,9	0,7	100,0	0,9

Relative Organverteilung einiger Enzyme beim Rind
nach KELLER (30) :

	LEBER	HERZ	NIERE	SKELETTMUSKEL	PLACENTOM
GOT	59,3	70	35,7	100,0	39,9
GPT	21,1	67,4	22,5	100,0	20,1
CK	1,1	40,9	0,4	100,0	0,08
GLDH	100,0	2,1	17,2	3,4	3,7
SDH	100,0	3,2	25,3	0,1	4,6
AP	4,1	0,5	35,2	0,8	100,0

TABELLE 2

NORMWERTE DER SERUMENZYMAKTIVITÄTEN BEIM HUND

NACH DÜRR/KRAFT (17)	GOT	- 20 μ U/ML
	GPT	- 20 μ U/ML
	CK	- 50 μ U/ML
	GLDH	- 6 μ U/ML
	SDH	- 1 μ U/ML
	AP	- 45 μ U/ML

TABELLE 3

HALBWERTSZEITEN IM PLASMA (MENSCH)

NACH SCHMIDT (57)	GOT	17 $\pm$ 5	H
	GPT	47 $\pm$ 10	H
	CK	ca. 15	H
	GLDH	18 $\pm$ 1	H
	AP	3 - 7	TAGE

TABELLE 4

DURCHSCHNITTLICHER AKTIVITÄTSVERLUST BEI AUFBEWAH-
RUNG DES SERUMS NACH SCHMIDT (57)

		24H	48H	3D	5D	7D
GOT	4°C	2 %	5 %	8 %	10 %	12 %
	25°C	2 %	6 %	10 %	11 %	13 %
GPT	4°C	2 %	5 %	10 %	11 %	13 %
	25°C	8 %	12 %	17 %	19 %	39 %
CK	4°C	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
	25°C	0 %	0 %	1 %	4 %	6 %
GLDH	4°C	0 %	2 %	5 %	13 %	26 %
	25°C	10 %	12 %	15 %	24 %	30 %
SDH	4°C	22 %	-	38 %	-	-
	25°C	24 %	31 %	58 %	69 %	78 %
AP	4°C	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
	25°C	0 %	2 %	3 %	6 %	10 %

Die unter physiologischen Bedingungen meßbaren Serumenzymaktivitäten der Zellenzyme sind Ausdruck eines Fließgleichgewichts, das durch Syntheserate und Austritt aus der Zelle einerseits, Inaktivierung und Elimination aus dem Serum andererseits bei der physiologischen Mauter der Erythrozyten, Leukozyten und Gewebszellen aufrechterhalten wird. Dieses Fließgleichgewicht repräsentiert sich klinisch in Form der tierartspezifischen Normalwerte.

Gesteigerte Aktivität eines Organs führt zu vermehrtem Übertritt von Zellenzymen in den extrazellulären Flüssigkeitsraum und damit zur Überschreitung der Normwerte ohne pathologisches Korrelat - im Gegensatz zu Aktivitätssteigerungen infolge Membranschädigung und Zellnekrose. So können Muskelbelastungen bei Untrainierten zu CK - Aktivitätssteigerungen führen (57), während gesteigerte GLDH - Aktivitäten stets Ausdruck einer Zellzerstörung sind (19).

Zusammenfassend gilt, daß die meßbaren Serumenzymaktivitäten der Zellenzyme abhängig sind von:

- der Permeabilität der Kern-, Mitochondrien- bzw. Zellmembran
- der Löslichkeit der Enzyme in der extrazellulären Flüssigkeit
- der Zirkulationsrate des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens
- der Vaskularisation des betroffenen Gewebes
- der Anwesenheit einer inflammatorischen (22), oder physiologischen Barriere (z.B. Blut - Hirn - Schranke bei der CK) (56)
- der Bestimmungsmethode

Die Messung von Serumenzymaktivitäten wurde erstmals von BERNIS (6) zur Objektivierung der Wirkung zytoplasmatischer Substanzen benutzt. BERNIS verfolgte die GPT- und Aldolase - Aktivitäten im Serum von Ratten nach Phosphoröl- bzw. Tetrachlorkohlenstoffintoxikation. Dabei fand sie in allen Versuchen signifikant niedrigere Werte bei der mit Dil.Nr.63 behandelten Versuchsgruppe gegenüber den unbehandelten Kontrollgruppen.

H.KRAFT (32) injizierte unbehandelten und mit Dilution Nr.96 (Skelettmuskel, Thymus, Rückenmark, Myokard fet.) vorbehandelten Ratten muskelreizende Präparate und untersuchte die Aktivitäten muskelspezifischer Enzyme. Während sowohl bei den unbehandelten, wie bei den vorbehandelten adulten Tieren die Serumenzymaktivitäten anstiegen, blieben sie bei vorbehandelten juvenilen unverändert. Weiterführende Untersuchungen liegen von HELLER (24) vor. Sie untersuchte die Aktivitäten der CK, GLDH, SDH, LDH, LDH₁, GOT und GPT nach intramuskulärer Verabreichung von Kochsalzlösung, Chinovetol und Leukomycin. Die Injektion von 1 ml phys. NaCl rief keine Aktivitätssteigerungen hervor. Die Injektion von 0,5 ml Chinovetol bewirkte einen rapiden Anstieg der CK schon nach einer Stunde, der sich erst nach 12 Stunden wieder normalisierte. Die LDH- und GOT - Aktivitäten stiegen nach 12 Stunden signifikant an und fielen wieder nach 24 Stunden. Der Versuch, den Anstieg der Aktivitäten muskelspezifischer Enzyme durch Vorbehandlung mit zytoplasmatischen Substanzen zu beeinflussen, erbrachte folgende Ergebnisse: Die subkutane Injektion von 1,0 ml Dil.Nr.96 an 3 aufeinanderfolgenden Tagen führte, anders als die Injektion physiologischer Kochsalzlösung, zu einer Erhöhung der CK- und LDH - Aktivitäten. Bei der anschließenden intramuskulären Injektion von 1,0 ml Chinovetol traten deutlich höhere CK- und GOT - Aktivitäten auf als bei den Tieren, die nicht mit Dil.Nr.96 vorbehandelt waren.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN IN TROCKEN -
SUBSTANZEN

3.1.1. MATERIAL

Enzymaktivitätsmessungen wurden in folgenden Präpa-
raten der Fa. vitOrgan, Ostfildern durchgeführt :

TABELLE 5

MESS- REIHE	TROCKENSUBSTANZ NUMMER (INHALT)	CHARGE NUMMER	LÖSUNGSMITTEL STÄRKE/CHARGE
01	26 LEBER	515	11 / 25
02		520	11 / 26
03		134	11 / 261
04		520	11 / 26
05	96 SKELETTMUSKEL	510	11 / 26
06	MYOKARD, THYMUS	101	11 / 24
07	RÜCKENMARK	517	11 / 27
08	27 NIERE	94	11 / 253
09		133	11 / 253
10		133	11 / 253
11	3 SKELETTMUSKEL	138	11 / 261
12		138	11 / 26
13		138	11 / 26
14	71 PLACENTA FOET.	501	1 / 267
15		140	1 / 252
16		133	1 / 252
17	6 HERZ	514	11 / 26
18		514	11 / 26
19		509	11 / 26

VON DEN GENANNTEN PRÄPARATEN WURDEN IN JEDER
MESSREIHE JE 5 AMPULLEN UNTERSUCHT

3.1.2. METHODE

Die Messungen der Enzymaktivitäten wurden im Eppendorf - Photometer mit Hilfe der Testansätze der Fa. Boehringer, Mannheim im Mikrolitersystem durchgeführt. Soweit Doppelproben nicht zum Vergleich der Lösungsverfahren notwendig waren, wurden sie zur Kontrolle der Ergebnisse bei gleichem Lösungsverfahren verwendet.

Von den in 3.1.1. genannten Präparaten wurden jeweils 3 Serien aus unterschiedlichen Chargen zu mindestens 5 Ampullen untersucht.

LÖSUNGSVERFAHREN A :

- Das beigegefügte Lösungsmittel (2 ml) wird in einer sterilen Einmalspritze (5 ml) mit aufgesetzter Kanüle ($\emptyset$ 1,1 mm) aufgezogen.
- Der abgesägte Ampullenkopf wird mit dem Lösungsmittel gespült, um anhaftende Partikel zu gewinnen.
- Das Lösungsmittel wird langsam entlang der Ampullenwand in die Ampulle gespritzt.
- Lösungsmittel incl. Organlyophilisat werden fünfmal aufgezogen und mit Druck zurückgespritzt.
- Ampulle incl. Spritze werden in ein Wasserbad von 25°C gestellt, dabei verbleiben 0,2 ml in der Spritze um auch in Konus und Kanüle verbliebene Trockensubstanzpartikel zu lösen.
- Alle 5 min wird der Ampulleninhalt aufgezogen und zur Durchmischung mit Druck zurückgespritzt.

- Inkubationszeit im Wasserbad: 45 min
- Anschließend wird bei 3000 U/min 10 min lang zentrifugiert.
- 0,5 ml des klaren Überstands werden vorsichtig abpipettiert und zur Bestimmung der Enzymaktivitäten verwendet.

LÖSUNGSVERFAHREN B :

- Wie Lösungsverfahren A, der verbliebene Rest wird jedoch durch ein Papierfilter filtriert, das Filtrat zur Doppelbestimmung verwendet.

LÖSUNGSVERFAHREN C :

- Wie Lösungsverfahren A, aber nur 20 min Inkubation im Wasserbad bei 25°C (C_{20}). Der verbliebene Rest wird nochmals suspendiert, weitere 25 min inkubiert und erneut zentrifugiert. Der klare Überstand wird zur Doppelbestimmung verwendet (C_{45}).

LÖSUNGSVERFAHREN D :

- Wie Lösungsverfahren A, der verbliebene Rest wird jedoch nochmals kräftig aufgeschüttelt und 6 Stunden bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt und zentrifugiert. Der klare Überstand wird zur Doppelbestimmung verwendet.

In den Tabellen werden innerhalb der Meßreihen die einzelnen Proben fortlaufend von 1 - 5 nummeriert. Maßeinheit für die angegebenen Werte ist $\mu\text{U/ml}$. Die Buchstaben A - D geben das Verfahren, der Index die Inkubationszeit im Wasserbad (z.B. C_{45} = 45 min).

3.1.3. ERGEBNISSE

TABELLE 6

MESSWERTE

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀
01										
1	158	155	22	22	16	14	1,2	0,9	5	1
2	136	29	19	3	15	7	0,9	0,4	6	2
3	141	132	24	25	18	17	0,8	0,6	6	5
4	117	99	21	14	13	9	0,9	0,4	4	0
5	98	36	17	14	19	11	1,0	1,0	7	6
02	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
1	1	1	131	26	49	47	1,2	1,0	11	9
2	1	0	130	155	51	49	0,9	1,1	11	9
3	1	1	132	148	78	91	0,3	0,4	12	13
4	0	1	114	138	47	44	0,7	0,4	6	7
5	0	0	150	102	59	57	0,7	0,3	12	12
03	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	134	135	15	14	20	19	49,4	49,2	3	3
2	95	93	11	12	15	14	26,4	25,6	8	7
3	114	116	15	16	34	32	36,3	36,9	4	3
4	111	110	12	10	18	20	31,4	31,0	3	4
5	121	119	13	11	24	25	29,2	29,1	5	4
04	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	0	0	128	126	52	54	0,7	0,7	5	6
2	0	0	157	159	49	57	1,9	2,1	7	7
3	1	0	146	146	78	79	1,3	1,0	8	8
4	1	1	159	161	61	66	1,3	1,5	9	10
5	0	0	138	138	35	34	1,4	0,9	8	5

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀
05										
1	151	98	16	8	1391	989	2,4	2,1	2	2
2	138	112	10	4	970	738	2,1	1,3	8	6
3	111	86	15	14	1401	1003	2,1	1,3	5	4
4	99	34	11	3	1022	812	2,4	1,4	4	4
5	127	14	12	1	1217	156	2,1	0,7	5	1
06	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	14	13	2	2	44	43	0,7	0,4	2	2
2	6	6	1	1	29	32	0,3	0,3	2	2
3	5	5	1	0	20	19	0,3	0,3	2	4
4	3	2	2	1	14	16	0,3	0,3	3	4
5	3	4	1	1	24	27	0,7	0,8	2	4
07	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	128	128	13	12	797	790	0,3	0,3	5	5
2	112	110	14	14	704	700	0	0	5	4
3	141	139	19	19	817	812	0,1	0	4	4
4	112	111	16	16	713	714	0,1	0,1	4	4
5	99	100	16	13	799	792	0,1	0	5	4
08	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀	C ₄₅	C ₂₀
1	56	50	6	4	89	80	7,5	7,2	12	10
2	82	76	5	5	133	129	9,9	9,1	16	15
3	79	62	2	2	125	78	1,8	0,6	14	11
4	65	44	2	0	108	96	6,2	5,9	17	9
5	63	51	5	4	131	109	7,1	6,4	17	13

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
09	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	17	-	29	-	523	-	1,7	-	79	-
2	23	-	29	-	624	-	1,7	-	77	-
3	17	-	50	-	267	-	1,0	-	63	-
4	31	-	27	-	443	-	1,3	-	83	-
5	19	-	31	-	339	-	1,0	-	87	-
10	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	0	-	102	-	542	-	0	-	57	-
2	5	-	38	-	378	-	0,3	-	46	-
3	192	-	26	-	445	-	1,4	-	35	-
4	6	-	14	-	218	-	0	-	37	-
5	2	-	14	-	207	-	0,3	-	41	-
11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	32	-	47	-	813	-	1,1	-	6	-
2	27	-	43	-	907	-	0,3	-	4	-
3	28	-	31	-	918	-	1,1	-	7	-
4	41	-	42	-	779	-	1,0	-	7	-
5	29	-	32	-	782	-	1,4	-	4	-
12	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	12	-	19	-	209	-	0,3	-	1	-
2	8	-	20	-	169	-	0,3	-	3	-
3	17	-	17	-	152	-	0,3	-	3	-
4	9	-	15	-	151	-	0,4	-	3	-
5	13	-	21	-	171	-	0	-	4	-

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
13	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	7	-	1	-	58	-	0,3	-	2	-
2	7	-	1	-	14	-	0,7	-	2	-
3	6	-	1	-	14	-	0,7	-	3	-
4	10	-	2	-	148	-	0,3	-	2	-
5	7	-	1	-	32	-	0,3	-	3	-
14	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	90	92	7	7	128	126	27,1	27,2	12	12
2	112	114	7	6	156	155	33,8	33,8	12	12
3	101	102	9	9	142	140	30,0	30,1	13	13
4	109	109	11	10	135	133	32,4	32,2	13	14
5	111	113	9	10	145	143	29,2	29,2	11	11
15	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
1	111	134	8	8	59	38	43,4	38,2	24	22
2	112	127	6	7	59	52	41,6	42,0	27	26
3	98	111	6	4	64	68	41,2	42,2	21	20
4	101	58	7	9	56	68	42,0	41,8	21	20
5	108	79	9	9	61	79	42,4	36,4	24	25
16	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	102	-	5	-	52	-	44,1	-	32	-
2	110	-	6	-	59	-	52,2	-	44	-
3	97	-	4	-	44	-	38,5	-	39	-
4	104	-	6	-	52	-	46,9	-	39	-
5	102	-	6	-	49	-	43,2	-	38	-

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
17	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
1	24	12	10	9	57	45	0,5	0	0	0
2	0	2	7	2	48	39	0,4	0,6	0	0
3	7	5	7	4	49	27	0,4	0	2	1
4	8	5	9	9	61	93	0,7	0,9	0	0
5	12	11	4	11	63	59	0,9	0	1	0
18	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	1	-	0	-	7	-	0,7	-	0	-
2	2	-	1	-	7	-	0,7	-	1	-
3	10	-	0	-	56	-	0,4	-	0	-
4	5	-	1	-	19	-	0,5	-	0	-
5	8	-	4	-	37	-	0,4	-	1	-
19	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	24	22	3	1	34	34	0,3	0,5	1	1
2	68	67	3	2	130	129	0,3	0,3	2	2
3	50	52	3	3	96	96	0,7	0,5	2	1
4	22	22	2	3	29	29	0,3	0,4	1	1
5	31	30	2	2	58	60	0,4	0,4	2	2

TABELLE 7

MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN

	GOT		GPT		CK		GLDH		AP	
01	130 ±23.09	90.2 ±56.36	20.2 ±2.70	15.6 ±8.56	16.2 ±2.39	11.6 ±3.97	0.96 ±0.15	0.66 ±0.28	5.6 ±1.14	2.8 ±2.59
02	0.6 ±0.55	0.6 ±0.55	131.4 ±12.76	113.8 ±53.15	56.8 ±12.70	57.6 ±19.28	0.76 ±0.33	0.64 ±0.38	10 ±2.55	10 ±2.45
03	115 ±14.27	114.6 ±15.21	13.2 ±1.79	12.6 ±2.41	22.2 ±7.36	22 ±6.82	34.54 ±9.06	34.36 ±9.25	4.6 ±2.07	4.2 ±1.64
04	0.4 ±0.55	0.2 ±0.45	145.6 ±13.01	146.2 ±14.65	55.0 ±15.89	58 ±16.57	1.32 ±0.43	1.24 ±0.56	7.4 ±1.55	7.2 ±1.92
05	125.2 ±20.74	68.8 ±42.51	12.8 ±2.59	6 ±5.15	1200.2 ±201.09	739.6 ±345.48	2.22 ±0.16	1.36 ±0.50	4.8 ±2.17	3.4 ±1.95
06	6.2 ±4.55	6 ±4.18	1.4 ±0.55	1 ±0.71	26.2 ±11.37	27.4 ±10.78	0.46 ±0.22	0.46 ±0.23	2.2 ±0.45	3.2 ±1.09
07	118.4 ±16.29	117.6 ±15.63	15.6 ±2.30	14.8 ±2.77	766 ±53.16	761.6 ±50.82	0.12 ±0.11	0.08 ±0.13	4.6 ±0.55	4.2 ±0.45
08	69 ±11.07	56.6 ±12.64	4 ±1.87	3 ±2	117.2 ±18.58	98.4 ±21.27	6.5 ±2.96	5.84 ±3.17	5.2 ±2.17	11.6 ±2.41
09	21.4 ±5.9		33.2 ±9.5		439.2 ±142.2		1.34 ±0.35		77.8 ±9.12	
10	41 ±84.45		38.8 ±36.70		358 ±145.11		0.4 ±0.58		43.2 ±8.79	

TABELLE 7 (FORTSETZUNG)

	GOT	GPT	CK	GLDH	AP
11	31,4 ± 5,68	39 ± 7,11	839,8 ± 67,80	0,98 ± 0,41	5,6 ± 1,52
12	11,8 ± 3,56	18,4 ± 2,41	170,4 ± 23,49	0,26 ± 0,15	2,8 ± 1,10
13	7,4 ± 1,52	1,2 ± 0,45	53,2 ± 55,97	0,46 ± 0,22	2,4 ± 0,55
14	104,6 ± 9,24	106,0 ± 9,14	8,4 ± 1,82	139,4 ± 10,92	12,2 ± 0,84
15	106 ± 6,20	101,8 ± 32,38	7,2 ± 1,30	59,8 ± 2,95	30,5 ± 2,57
16	103 ± 4,69	5,4 ± 0,89	7,4 ± 2,07	42,12 ± 0,84	12,4 ± 1,14
17	10,2 ± 8,84	7 ± 4,3	51,2 ± 5,45	44,98 ± 5,04	23,4 ± 2,51
18	5,2 ± 3,83	1,2 ± 1,64	55,6 ± 6,84	0,58 ± 0,22	38,4 ± 4,28
19	39 ± 19,62	38,5 ± 20,07	2,6 ± 0,55	0,4 ± 0,15	0,6 ± 0,89
			25,2 ± 21,15	0,42 ± 0,08	0,2 ± 0,45
			69,4 ± 43,0	0,4 ± 0,17	0,4 ± 0,55
			2,2 ± 0,84	1,6 ± 0,55	1,4 ± 0,55

= RELATIV HÖCHSTE MITTELWERTE OHNE BERÜCKSICHTIGUNG VON MISCHPRÄPARAT 96
(MESSREIHEN 05, 06, 07) UND OHNE BERÜCKSICHTIGUNG DER DOPPELBESTIMMUNGEN

TABELLE 8

VERGLEICH DER VERFAHREN A/B, C_{45}/C_{20} UND A/D IN BEZUG AUF DIE DIFFERENZEN ZWISCHEN DEN EINZELMESSWERTEN X DER ENTSPRECHENDEN DOPELBESTIMMUNGEN

	GOT			GPT			CK			GLDH			AP		
A/B	04	14	19	04	14	19	04	14	19	04	14	19	04	14	19
$\Delta x =$	1	2	2	1	0	2	1	2	0	0,2	0,1	0,2	0	0	0
$ x_A - x_B $	2	2	1	2	1	1	1	1	1	0,2	0	0	1	0	0
	2	1	2	1	0	0	2	2	0	0,6	0,1	0,2	1	0	1
	1	0	0	2	1	1	2	2	0	0,4	0,2	0,1	1	1	0
	2	2	1	2	1	0	1	2	2	0,1	0	0	1	0	0
C_{45}/C_{20}	01	05	08	01	05	08	01	05	08	01	05	08	01	05	08
$\Delta x =$	3	53	6	0	8	2	2	402	9	0,3	0,3	0,3	4	0	2
$ x_A - x_B $	107	26	6	16	6	0	8	232	4	0,5	0,8	0,8	4	2	1
	9	25	17	1	1	0	1	398	47	0,2	1,2	1,2	1	1	3
	18	65	21	7	8	2	4	210	12	0,5	1	0,3	4	0	8
	62	113	12	3	11	1	8	1061	22	0	1,4	0,7	3	4	4
A/D	02	15	17	02	15	17	02	15	17	02	15	17	02	15	17
$\Delta x =$	0	23	12	105	0	1	2	21	12	0,2	5,2	0,5	2	2	0
$ x_A - x_B $	1	15	2	25	1	5	2	7	9	0,2	0,4	0,2	0	1	0
	0	13	2	16	2	1	13	4	22	0,1	1	0,4	1	0	1
	1	43	3	24	1	0	3	12	32	0,3	0,2	0,2	1	1	0
	0	27	1	48	0	7	2	18	4	0,4	6	0,1	0	1	1

VERGLEICH DER VERFAHREN A/B, C_{45}/C_{20} UND A/D IN BEZUG AUF DIE DIFFERENZEN ZWISCHEN DEN MITTELWERTEN Y DER ENTSPRECHENDEN DOPELBESTIMMUNGEN

	GOT			GPT			CK			GLDH			AP		
A/B	04	14	19	04	14	19	04	14	19	04	14	19	04	14	19
$\Delta Y =$ $ Y_A - Y_B $	0,4	1,4	0,5	0,6	0,2	0,4	0,2	1,8	0,2	0,18	0	0,02	0,4	0,2	0,2
C_{45}/C_{20}	01	05	08	01	05	08	01	05	08	01	05	08	01	05	08
$\Delta Y =$ $ Y_{C45} - Y_{C20} $	39,8	56,4	12,4	5	6,8	1	4,6	460,6	18,8	0,3	0,86	0,66	2,8	1,4	6,4
A/D	02	15	17	02	15	17	02	15	17	02	15	17	02	15	17
$\Delta Y =$ $ Y_A - Y_D $	0	4,2	2,8	17,6	0,2	0,4	0,8	1,2	3	1,2	2	0,28	0	0	0,4

TABELLE 10

VERGLEICH DER DOPELBESTIMMUNGEN NACH VERFAHREN A IN BEZUG AUF DIE DIFFERENZEN ZWISCHEN DEN EINZELMESSWERTEN X ZUR KONTROLLE DER REPRODUZIERBARKEIT

A/A	04	06	07	04	06	07	04	06	07	04	06	07	04	06	07
$\Delta x =$	0	1	0	2	0	1	2	1	7	0	0,1	0	1	0	0
$ x_{A1} - x_{A2} $	0	0	2	2	0	0	8	3	4	0,2	0	0	0	0	1
	1	0	2	0	1	0	1	1	5	0,3	0	0,1	0	2	0
	0	1	1	2	1	0	5	2	1	0,2	0	0	1	1	0
	0	1	1	0	0	3	1	3	7	0,5	0,1	0,1	3	2	1

TABELLE 11

RELATIVE MITTELWERTE, BEZOGEN AUF DEN HÖCHSTEN ERRECHNETEN MITTELWERT (S.TAB.7) DES JEWEILIGEN ENZYMS IN PROZENT

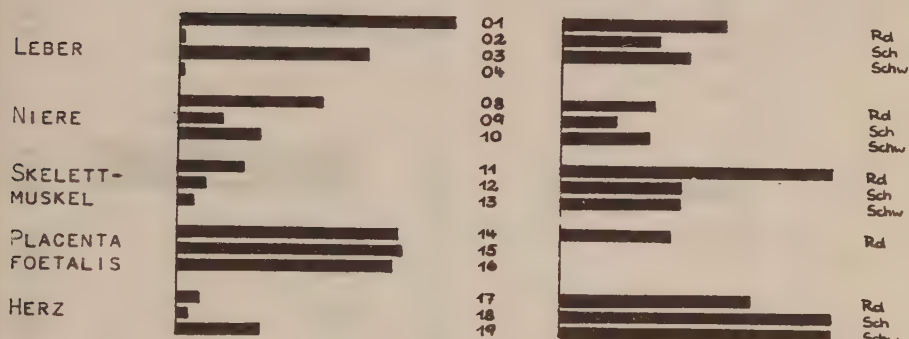
	GOT	GPT	CK	GLDH	AP
01 TS Nr.26	100	13,87	1,93	2,13	7,2
02 (Leber)	0,46	90,25	6,76	1,69	12,85
03	88,86	9,07	2,64	76,79	5,91
04	0,31	100	6,54	2,93	9,51
08 TS Nr.27	53,08	2,75	13,96	14,45	6,68
09 (Niere)	16,46	22,80	52,3	2,98	100
10	31,54	26,65	42,63	0,89	55,53
11 TS Nr.3	24,15	26,78	100	2,18	7,2
12 (Skelett- muskel)	9,08	12,63	20,29	0,58	3,6
13	5,69	0,83	6,33	1,02	3,08
14 TS Nr.71	80,46	5,91	16,81	67,81	15,68
15 (Placenta foetalis)	81,54	4,95	7,12	93,64	30,08
16	79,23	3,71	6,1	100	49,36
17 TS Nr.6	7,85	5,08	6,62	1,29	0,77
18 (Herz)	4,0	76,92	3,00	1,20	0,51
19	30,0	1,79	8,26	0,89	2,06

ABBILDUNG 1

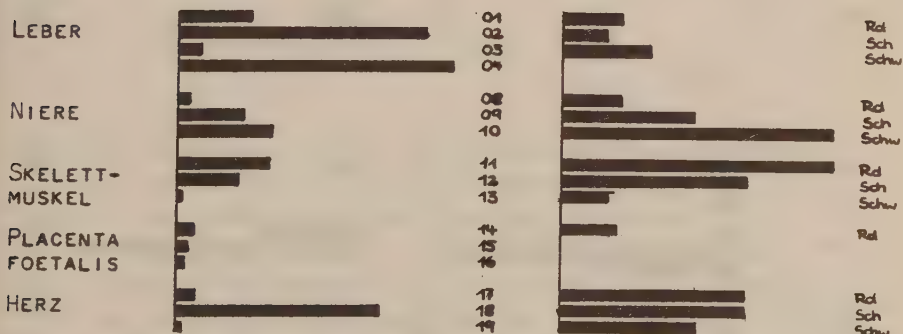
GENÜBERSTELLUNG DER RELATIVEN ENZYMAKTIVITÄTEN IN DEN UNTERSUCHTEN PRÄPARATEN (A) UND DER ENZYMPROFILE BEI RIND (RD), SCHAF (SCH), UND SCHWEIN (SCHW) (B)

A

B

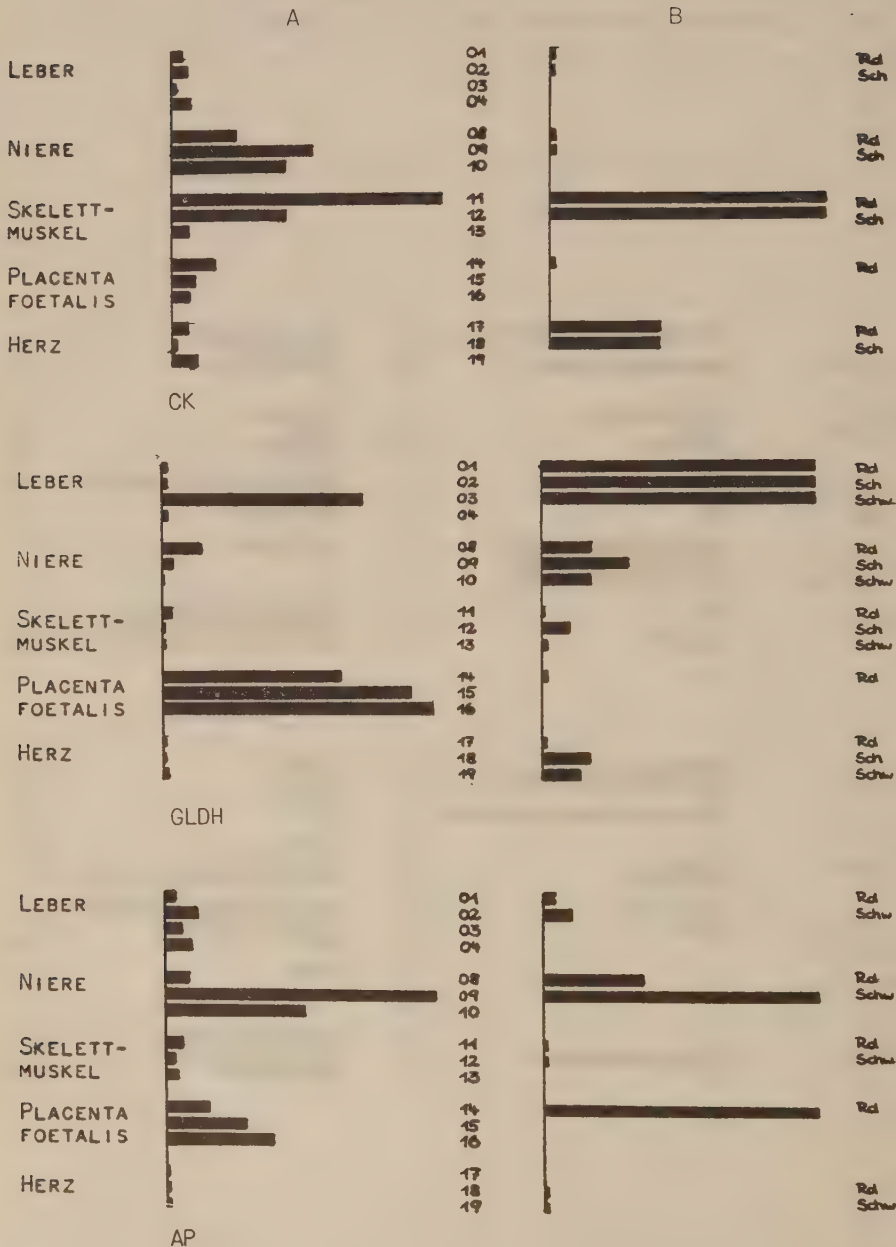


GOT



GPT

ABBILDUNG 1 (FORTSETZUNG)



3.2. SERUMENZYMAKTIVITÄTEN UND BLUTWERTE NACH APPLIKATION ZYTOPLASMATISCHER SUBSTANZEN

3.2.1. MATERIAL

Als Versuchstiere dienten 4 Boxer - Schäferhund - Bastarde, 3 Beagles, ein Pointer und ein Schäferhund der Medizinischen Tierklinik.

1	männl.	26,1 kg	12 J.	6	männl.	11,2 kg	3 J.
2	männl.	29,5 kg	12 J.	7	weibl.	10,5 kg	3 J.
3	weibl.	18,2 kg	12 J.	8	männl.	19,8 kg	9 J.
4	männl.	26,8 kg	12 J.	9	männl.	24,4 kg	4 J.
5	männl.	13,0 kg	3 J.				

Appliziert wurden die zytoplasmatischen Präparate der Firma vitOrgan, Ostfildern:

Dil.Nr.26 (Leber), TS Nr.26 (Leber),

Dil.Nr.71 (Placenta foet.),

Dil.Nr.96 (Skelettmuskulatur, Thymus, Rückenmark, Myocard)

3.2.2. METHODE

Um Anhaltspunkte über die Veränderung einiger Laborparameter nach Applikation zytoplasmatischer Substanzen in therapeutischer Dosierung am gesunden Hund zu gewinnen, und damit eine Beeinflussung der klinischen Verlaufskontrolle bei Versuchshunden und Patienten abschätzen zu können, wurden verschiedene Pilot-Versuchsanordnungen getroffen.

VERSUCH I

Insgesamt 6 Hunden wurden nach Bestimmung der Ausgangswerte Revitorgan - Dilutionen injiziert. Die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH und SDH wurden nach 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h bestimmt. Da sich eine sechsmalige Blutentnahme innerhalb von 24h in der benötigten Menge beim selben Versuchstier aus methodischen Gründen als problematisch erwies, wurde der Versuch zeitlich versetzt durchgeführt, sodaß Blutentnahmen und Serumenzymaktivitätsbestimmungen jeweils bei 4 Hunden nach 0h, 1h, 8h, nach 0h, 4h, 12h, sowie nach 0h, 2h, 24h durchgeführt wurden.

VERSUCH II

4 Hunden wurde nach Bestimmung der Ausgangswerte an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 ml Dil.Nr.26 subkutan und am vierten Tag 2 ml TS Nr.26 intramuskulär injiziert. Die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH und AP wurden 0h, 24h, 48h und 72h nach Versuchsbeginn, sowie 1h, 12h und 24h nach Applikation der Trockensubstanz bestimmt.

VERSUCH III

7 Hunden wurden je 2 ml Dil.Nr.96 an 3 aufeinanderfolgenden Tagen nach Bestimmung der Ausgangswerte subkutan injiziert. Die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK und GLDH wurden täglich gemessen. Dieser Versuch entspricht der Versuchsanordnung unter 3.3.2.

VERSUCH IV

Fünf Hunden wurde nach Bestimmung der Ausgangswerte 2,0 ml TS 26 intramuskulär verabreicht. Nach 3h, 12h, 24h, und 48h wurden die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH und AP, Puls, Temperatur, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, Leukozytenzahl und Differentialblutbild bestimmt.

Die angegebenen Präparate wurden entsprechend den therapeutischen Empfehlungen für die Tiermedizin (33) immer in der gleichen Dosis (2 ml/Tier) verabreicht.

Die Blutentnahmen wurden aus den Vv. cephalicae der Vordergliedmaßen entnommen.

Serum wurde mittels Zentrifugieren gewonnen, nachdem die Gerinnung eingetreten war. Lipämische Seren wurden mit dem Serumentfetter der Fa. Schubert, München geklärt.

Die Enzymaktivitätsmessungen wurden im Eppendorf - Photometer unter Verwendung der Testansätze der Fa. Boehringer, Mannheim im Mikrolitersystem durchgeführt.

Die Versuchstiere werden in den Tabellen und Graphiken mit den oben angegebenen Nummern, Dilutionen mit Dil., Trockensubstanzen mit TS abgekürzt.

Für die gemessenen Parameter werden die kliniküblichen Abkürzungen verwendet.

3.2.3. ERGEBNISSE

TABELLE 12

ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN NACH EINMALIGER INJEKTION
VON DILUTIONEN SUBKUTAN (VERSUCH 1)

DIL 26	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
4 0 H	8	38	32	3,5	1,4
1 H	25	39	34	3,8	1,2
8 H	14	38	34	3,3	1,6
3 0 H	11	16	29	6,8	0,6
1 H	18	24	27	4,5	1,0
8 H	17	22	27	4,2	0,8

DIL 26	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
1 0 H	11	17	14	3,1	0,8
4 H	7	17	14	2,8	1,0
12 H	8	17	12	1,7	1,0
2 0 H	10	28	24	2,4	0,8
4 H	8	26	26	3,5	0,3
12 H	9	25	22	2,1	0

DIL 26	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
1 0 H	9	25	27	3,1	0,4
2 H	10	26	25	3,8	0,4
24 H	10	18	22	2,1	0,8
8 0 H	10	20	17	2,4	0,8
2 H	9	18	15	2,6	0,5
24 H	10	19	16	3,1	0,6

TABELLE 12 (FORTSETZUNG)

DIL 71	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
9 0 H	13	15	24	3,2	0,4
1 H	10	17	22	2,4	0,2
8 H	18	8	17	3,1	1,4
2 0 H	11	27	22	3,5	0,2
1 H	12	26	27	3,1	0,2
8 H	27	10	22	3,5	1,6

DIL 71	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
8 0 H	11	19	19	3,8	1,3
4 H	9	19	17	2,8	0,3
12 H	9	17	14	1,7	0,5
4 0 H	10	19	34	2,1	1,1
4 H	12	19	46	1,7	0,2
12 H	11	20	37	1,4	1,3

DIL 71	GOT	GPT	CK	GLDH	SDH
2 0 H	9	34	32	4,2	0,8
2 H	9	38	44	4,5	0,8
24 H	8	29	29	3,5	0,1
1 0 H	10	18	22	2,4	0,2
2 H	14	20	22	3,8	0,5
24 H	12	18	22	3,8	0,2

TABELLE 13

VERSUCH II

ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN NACH INJEKTION VON DIL.NR.26
AN 3 AUF EINANDERFOLGENDEN TAGEN UND INJEKTION VON
TS NR.26 AM 4. TAG

		0H	24H	48H	72H	73H	84H	96H
GOT	2	12	11	17	10	12	10	9
	3	11	19	16	10	15	17	14
	1	9	10	11	11	10	9	9
	8	13	12	12	9	10	8	9
GPT	2	29	31	34	26	28	26	30
	3	16	16	22	16	17	21	19
	1	25	18	21	24	20	20	21
	8	14	23	22	22	19	18	20
CK	2	26	24	17	14	18	22	22
	3	29	27	24	19	20	22	19
	1	27	22	20	25	26	17	17
	8	22	33	30	34	37	28	17
GLDH	2	3,6	3,8	5,2	6,3	3,8	2,8	2,1
	3	6,8	3,8	4,0	4,5	4,6	5,2	4,3
	1	3,1	2,1	3,5	3,5	2,8	2,1	2,1
	8	2,8	4,5	4,2	7,0	4,4	4,9	3,9
AP	2	78	69	82	81	67	74	91
	3	28	48	64	96	83	42	56
	1	54	56	58	62	61	56	57
	8	92	88	84	97	95	120	89

TABELLE 14

VERSUCH III

ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN NACH DREIMALIGER INJEKTION
VON DIL.NR.96 SUBKUTAN

		0h	24h	48h	72h
GOT	1	8	10	9	9
	2	10	8	9	11
	3	17	12	16	20
	5	13	9	11	11
	6	6	10	9	7
	7	14	14	16	12
	8	16	14	16	17
GPT	1	20	22	21	22
	2	34	36	37	33
	3	29	31	35	36
	5	15	13	17	16
	6	22	23	18	21
	7	18	19	19	18
	8	22	23	18	19
CK	1	12	19	19	17
	2	14	14	17	17
	3	57	47	57	64
	5	79	69	62	54
	6	46	34	44	52
	7	33	30	41	39
	8	56	60	57	59
GLDH	1	1,7	3,1	3,5	2,4
	2	3,5	3,5	3,8	3,8
	3	4,8	4,2	3,8	4,2
	5	4,5	4,9	4,8	5,2
	6	4,2	3,9	3,3	2,8
	7	3,8	3,9	4,0	4,2
	8	4,8	4,2	4,9	5,6

TABELLE 15

VERSUCH II : MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN

	OH	24H	48H	72H	73H	84H	96H
GOT	11,25 $\pm 1,70$	13 $\pm 4,08$	14 $\pm 2,94$	10 $\pm 0,81$	11,75 $\pm 2,36$	11 $\pm 4,08$	10,25 $\pm 2,5$
GPT	21 $\pm 7,16$	22 $\pm 6,68$	24,75 $\pm 6,18$	22 $\pm 4,32$	21 $\pm 4,83$	21,25 $\pm 3,40$	22,5 $\pm 6,07$
CK	26 $\pm 2,94$	26,5 $\pm 4,80$	22,75 $\pm 5,62$	23 $\pm 8,60$	25,25 $\pm 8,54$	22,25 $\pm 4,5$	18,75 $\pm 2,36$
GLDH	4,08 $\pm 1,85$	3,55 $\pm 1,02$	4,23 $\pm 0,71$	5,35 $\pm 1,57$	3,9 $\pm 0,81$	3,75 $\pm 1,53$	3,1 $\pm 1,17$
AP	63 $\pm 28,12$	65,25 $\pm 17,46$	72 $\pm 12,96$	84 $\pm 16,39$	76,5 $\pm 15,44$	73 $\pm 33,96$	73,25 $\pm 19,36$

TABELLE 16

VERSUCH III : MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN

	OH	24H	48H	72H
GOT	12 $\pm 4,12$	11 $\pm 2,38$	12,29 $\pm 3,55$	12,43 $\pm 4,54$
GPT	22,86 $\pm 6,54$	23,86 $\pm 7,58$	23,57 $\pm 8,6$	23,57 $\pm 7,76$
CK	42,43 $\pm 24,39$	39 $\pm 20,56$	42,43 $\pm 18,29$	43,14 $\pm 19,44$
GLDH	3,9 $\pm 1,09$	3,96 $\pm 0,57$	4,01 $\pm 0,61$	4,03 $\pm 1,16$

TABELLE 17

VERSUCH IV

PULS, TEMPERATUR, HÄMATOKRIT, BLUTKÖRPERCHENSENKUNGS-
GESCHWINDIGKEIT UND GESAMTLEUKOZYTENZAHLE NACH EIN-
MALIGER INJEKTION VON TS Nr.26 INTRAMUSKULÄR

HUND		3	5	6	8	9	MITTEL- WERT	STANDARD- ABWEICHUNG
PULS	0H	94	94	84	96	100	93,6	$\pm 5,9$
	3H	94	98	80	102	104	95,6	$\pm 9,53$
	24H	96	92	80	96	100	92,8	$\pm 7,69$
	48H	88	98	98	100	104	97,6	$\pm 5,9$
TEMP	0H	38	39,5	39	38,3	39,4	38,84	$\pm 0,67$
	3H	38,8	38,4	38	39,4	39,4	38,8	$\pm 0,62$
	24H	38,6	38,4	38,8	38,1	39,2	38,62	$\pm 0,41$
	48H	38,8	39	38,8	38,4	39,4	38,88	$\pm 0,36$
HK	0H	45	29	40	45	44	40,6	$\pm 6,8$
	3H	44	32	43	43	41	40,6	$\pm 4,93$
	24H	51	40	40	48	38	43,4	$\pm 5,74$
	48H	46	36	44	48	41	43	$\pm 4,69$
BSG	0H	21	35	31	20	35	28,4	$\pm 7,4$
	3H	25	39	39	22	28	30,6	$\pm 7,96$
	24H	28	33	40	28	30	31,8	$\pm 5,02$
	48H	26	38	36	30	35	33	$\pm 4,9$
LEUKO	0H	6350	6200	6600	6700	7850	6740	$\pm 651,34$
	3H	6850	8250	6800	6800	7600	7260	$\pm 649,42$
	24H	6750	8400	6950	6850	8000	7390	$\pm 756,14$
	48H	8250	8250	7100	7000	8250	7770	$\pm 658,22$

TABELLE 18

VERSUCH IV

SERUMENZYMAKTIVITÄTEN NACH EINMALIGER INJEKTION VON
TS Nr. 26 INTRAMUSKULÄR

HUND		3	5	6	8	9	MITTEL- WERT	STANDARD- ABWEICHUNG
GOT	0H	11	11	9	10	11	10,4	$\pm 0,89$
	3H	14	9	8	9	11	10,2	$\pm 2,39$
	24H	13	13	9	9	13	11,4	$\pm 2,19$
	48H	15	9	10	12	12	11,6	$\pm 2,30$
GPT	0H	22	13	15	20	32	20,4	$\pm 7,44$
	3H	23	12	15	23	29	20,4	$\pm 6,84$
	24H	26	20	9	23	40	23,6	$\pm 11,19$
	48H	23	14	17	27	26	21,4	$\pm 5,68$
CK	0H	27	59	33	42	20	36,2	$\pm 15,09$
	3H	44	56	26	40	56	44,4	$\pm 12,52$
	24H	27	62	34	32	66	44,2	$\pm 18,31$
	48H	31	61	34	41	52	43,8	$\pm 12,56$
GLDH	0H	6,3	5,2	5,6	3,8	6,8	5,54	$\pm 1,15$
	3H	6,7	6,0	-	3,5	6,2	5,6	$\pm 1,43$
	24H	6,7	5,2	5,2	2,8	5,9	5,16	$\pm 1,46$
	48H	1,7	1,7	1,0	6,4	8,4	3,84	$\pm 3,34$
AP	0H	50	75	129	104	30	77,6	$\pm 39,92$
	3H	78	93	108	78	33	78	$\pm 28,06$
	24H	64	70	138	135	41	89,6	$\pm 44,17$
	48H	53	82	162	40	19	71,2	$\pm 55,66$

TABELLE 19

VERSUCH IV

DIFFERENTIALBLUTBILD NACH EINMALIGER INJEKTION VON
TS Nr. 26 INTRAMUSKULÄR

HUND		3	5	6	8	9	MITTEL- WERT	STANDARD- ABWEICHUNG
SEG- MENT	0H	55	63	59	60	66	60,6	$\pm$ 4,16
	3H	50	73	52	56	69	60	$\pm$ 10,37
	24H	43	55	61	61	67	57,4	$\pm$ 9,1
	48H	47	52	46	53	56	50,8	$\pm$ 4,21
STAB	0H	3	4	8	7	5	5,4	$\pm$ 2,07
	3H	5	4	8	8	5	6	$\pm$ 1,87
	24H	6	6	5	8	5	6	$\pm$ 1,22
	48H	6	5	7	6	4	5,6	$\pm$ 1,14
EOS	0H	13	2	12	8	6	8,2	$\pm$ 4,49
	3H	12	5	7	6	5	7	$\pm$ 2,92
	24H	14	3	10	8	2	7,4	$\pm$ 4,98
	48H	7	2	9	7	14	7,8	$\pm$ 4,33
PLONO	0H	3	3	4	4	3	3,4	$\pm$ 0,55
	3H	3	2	4	5	2	3,2	$\pm$ 1,3
	24H	3	4	3	2	3	3	$\pm$ 0,71
	48H	4	5	3	5	4	4,2	$\pm$ 0,84
LYMPHO	0H	25	27	14	20	17	20,6	$\pm$ 5,41
	3H	30	15	26	25	18	22,8	$\pm$ 6,14
	24H	32	29	17	19	22	23,8	$\pm$ 6,46
	48H	34	35	31	27	21	29,6	$\pm$ 5,73
BASO	0H	1	1	3	1	3	1,8	$\pm$ 1,38
	3H	0	1	3	0	1	1	$\pm$ 1,22
	24H	2	3	4	2	1	2,4	$\pm$ 1,14
	48H	2	1	2	2	1	1,6	$\pm$ 0,92

ABBILDUNG 2

VERSUCH I

ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN NACH INJEKTION VON DIL.Nr.26 s.c.

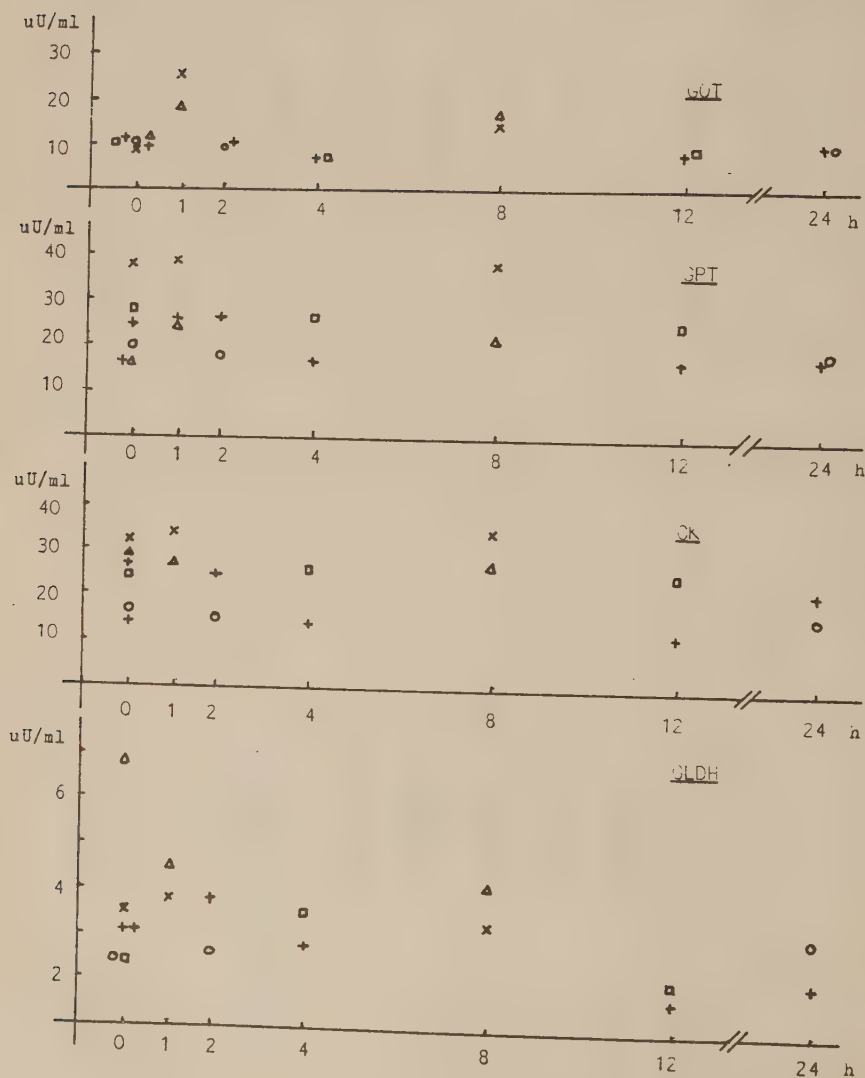


ABBILDUNG 2 (FORTSETZUNG)

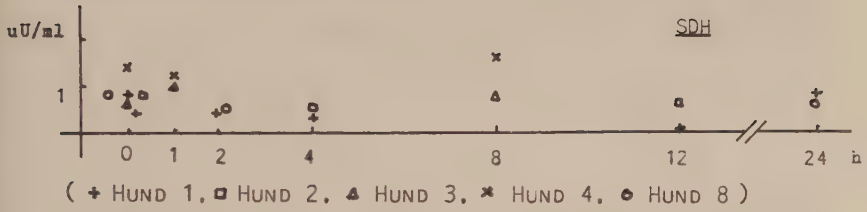


ABBILDUNG 3
VERSUCH II

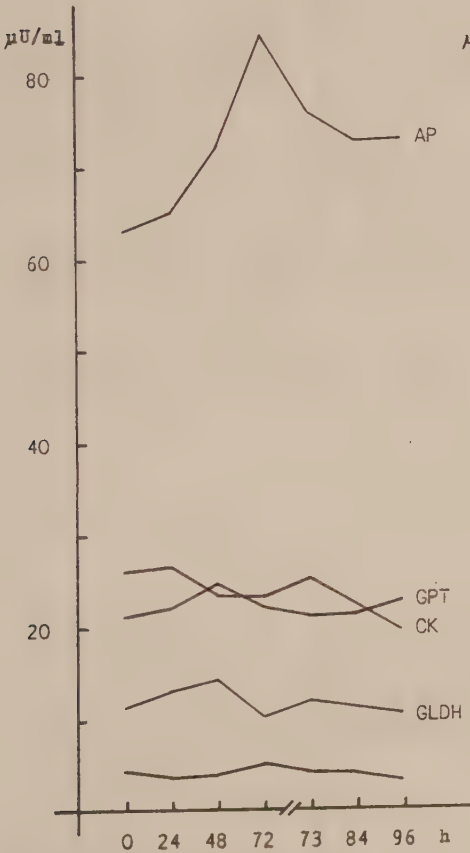
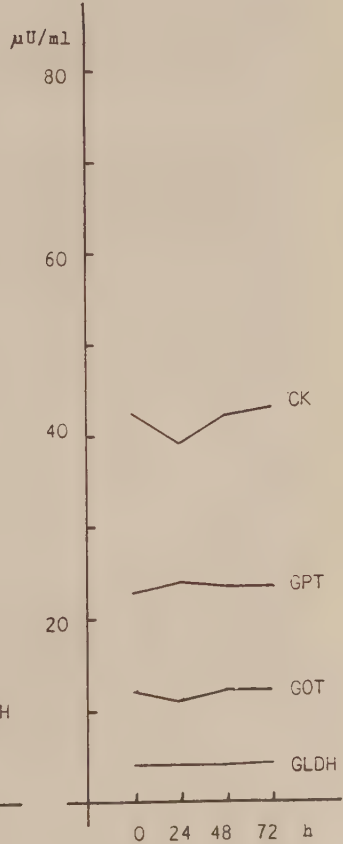


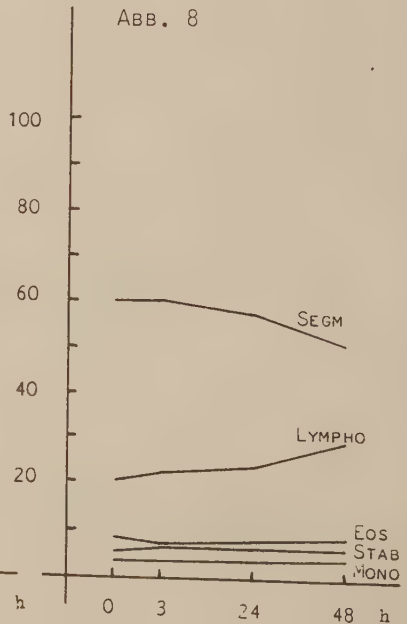
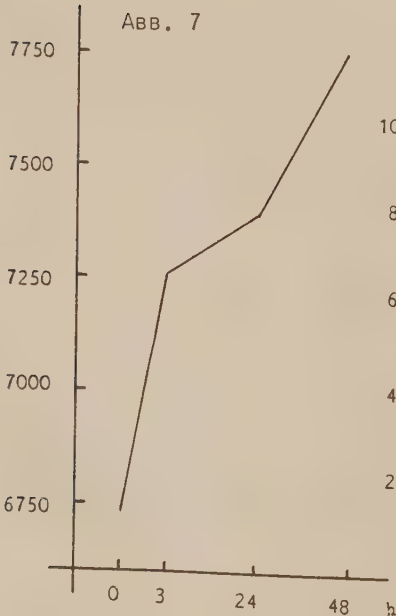
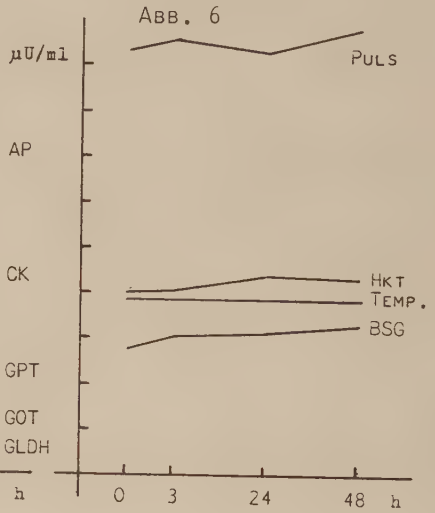
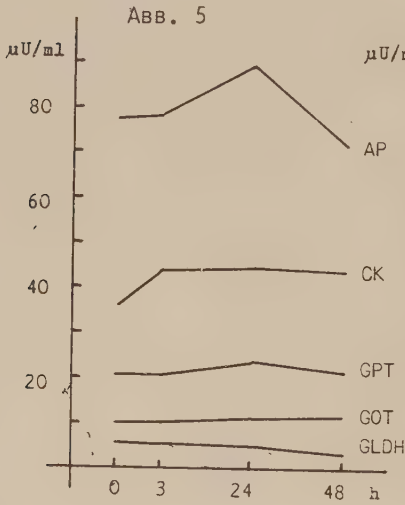
ABBILDUNG 4
VERSUCH III



ABBILDUNGEN 5 - 8

VERSUCH IV

ENZYMAKTIVITÄTEN, PULS, HKT., BSG, TEMPERATUR, GESAMT-
LEUKOZYTENZAHL UND DIFFERENTIALBLUTBILD NACH INJEK-
TION VON TS NR.26 I.M.



3.3. SERUMENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN NACH EXPERIMENTELLEM MUSKELTRAUMA BEI HUNDEN

3.3.1. MATERIAL

Als Versuchshunde dienten 4 Boxer - Schäferhund - Bastarde, 3 Beagles und ein Pointer der Medizinischen Tierklinik:

1	männl.	26,2 kg	12 J.	5	männl.	13,0 kg	3 J.
2	männl.	29,3 kg	12 J.	6	männl.	11,5 kg	3 J.
3	weibl.	18,3 kg	12 J.	7	weibl.	11 kg	3 J.
4	männl.	26,8 kg	12 J.	8	männl.	19,8 kg	9 J.

Appliziert wurde das zytoplasmatische Präparat Dil. Nr.96 (Skelettmuskel, Thymus, Rückenmark, Myocard fet.) der Fa. vitOrgan, Ostfildern, sterile physiologische Kochsalzlösung, sowie ein vorübergehend lokal reizendes Chinin - Campher - Eucalyptusöl - Gemisch, das sonst zur Therapie respiratorischer Erkrankungen eingesetzt wird (Chinovetol, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte e.G., Hannover, Charge 1163).

3.3.2. METHODE

Nach den unter 3.1. und 3.2. beschriebenen grundlegenden Versuchen soll die Beeinflussung unphysiologischer Serumenzymaktivitäten am Modell des experimentellen Muskeltraumas untersucht werden.

8 Hunden (Kontrollgruppe) wurde nach Bestimmung der Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK und GLDH an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 2,0 ml physiologischer Kochsalzlösung subkutan injiziert.

7 Hunden (Versuchsgruppe) wurde anstelle der Kochsalzlösung täglich je 2,0 ml Revitorgan - Dil. Nr.96 injiziert.

Nach Bestimmung der Serumenzymaktivitäten wurde am vierten Tag 0,1 ml/kgKG der lokal reizenden Injektionslösung intramuskulär verabreicht und anschließend die Serumenzymaktivitäten nach 1h und nach 12h, sowie an den drei folgenden Tagen bestimmt.

Da sich 7 Hunde in Kontroll- und Versuchsgruppe paarweise entsprachen, wurde auf ausreichende Zwischenzeiten zwischen den Versuchen, sowie auf Wechsel der Injektionsstelle geachtet. Die Blutproben wurden aus den Vv. cephalicae der Vordergliedmaßen entnommen.

Serum wurde mittels Zentrifugieren gewonnen, nachdem die Gerinnung eingetreten war. Lipämische Seren wurden mit dem Serumentfetter der Fa. Schubert, München geklärt.

Die Enzymaktivitätsmessungen wurden im Eppendorf - Photometer unter Verwendung der Testansätze der Firma Boehringer, Mannheim, im Mikrolitermaßstab durchgeführt.

Die Versuchstiere wurden mit den oben angegebenen Nummern, Dilution mit Dil., physiologische Kochsalzlösung mit NaCl abgekürzt. Für die gemessenen Parameter wurden die kliniküblichen Abkürzungen verwendet.

3.3.3. ERGEBNISSE

TABELLE 20

ENZYMAKTIVITÄTEN NACH SUBKUTANER INJEKTION VON
2,0 ML NaCl 0,9% 24H UND 48H NACH VERSUCHSBEGINN
UND INJEKTION DES LOKAL REIZENDEN PRÄPARATES NACH
72H.

	0H	24H	48H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GOT 1	13			11	12	14	14	14	12
2	10			11	15	19	16	15	10
3	10			9	13	25	22	19	14
4	15			14	16	22	18	16	16
5	12			10	12	22	22	18	15
6	13			13	16	44	22	18	12
7	16			16	17	24	19	17	17
8	17			14	17	18	14	18	24
GPT 1	15			14	15	14	17	17	22
2	27			25	26	32	28	27	27
3	19			18	17	18	19	18	18
4	20			19	19	22	22	20	21
5	20			19	20	21	20	18	18
6	16			21	22	17	21	19	21
7	18			16	16	16	17	16	17
CK 1	51			49	74	289	124	59	29
2	40			38	56	182	72	48	29
3	25			22	78	282	111	48	24
4	74			81	127	312	182	98	67
5	56			59	109	308	199	92	62
6	33			39	186	419	178	68	32
7	49			46	113	382	244	99	53
8	31			30	66	294	173	59	29

TABELLE 20 (FORTSETZUNG)

	0H	24H	48H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GLDH 1	3,3			3,5	3,2	2,9	3,5	2,4	2,4
2	3,6 ^v			3,5	3,8	4,2	2,4	2,4	2,8
3	3,9			3,8	3,8	4,2	4,0	3,9	4,1
4	4,8			4,2	4,3	5,6	4,8	4,3	5,1
5	6,0			6,0	6,4	8,4	5,8	6,2	6,2
6	2,5			2,2	2,9	2,8	2,8	3,1	2,8
7	4,2			4,3	4,2	4,3	3,9	4,4	4,2
8	5,1			5,2	5,2	5,2	3,1	3,0	2,8

TABELLE 21

ENZYMAKTIVITÄTEN NACH DREIMALIGER SUBKUTANER INJEKTION VON 2,0 ML DIL.NR.96 UND INJEKTION DES LOKAL REIZENDEN PRÄPARATES 72H NACH VERSUCHSBEGINN.

		0H	24H	48H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GOT	1	8	10	9	9	7	14	9	8	9
	2	10	8	9	11	12	15	13	7	8
	3	17	12	16	20	17	17	14	16	16
	4	6	10	9	7	9	16	12	9	11
	5	13	9	11	11	10	12	14	12	12
	6	16	14	16	17	19	29	21	16	16
	7	14	14	16	12	15	21	17	17	14
GPT	1	20	22	21	22	19	22	15	26	21
	2	34	36	37	33	28	28	27	26	29
	3	29	31	35	36	31	28	33	32	29
	4	22	23	8	21	25	25	24	17	20
	5	15	13	17	16	16	17	13	15	16
	6	22	23	18	19	19	18	17	18	17
	7	18	19	19	18	19	17	18	18	17
CK	1	12	19	19	17	32	163	141	64	34
	2	14	14	17	17	32	108	84	54	28
	3	57	47	57	64	78	104	104	62	49
	4	46	34	44	52	62	209	111	74	39
	5	79	69	62	54	72	186	99	84	68
	6	56	60	57	59	112	317	203	122	79
	7	33	30	41	39	63	198	79	61	52
GLDH	1	1,7	3,1	3,5	2,4	2,6	2,4	2,5	3,1	3,1
	2	3,5	3,5	3,8	3,8	3,1	3,1	3,1	3,5	3,3
	3	4,8	4,2	3,8	4,2	4,0	4,1	3,8	3,8	4,0
	4	4,2	3,9	3,3	2,8	3,4	5,2	3,9	4,1	4,0
	5	4,5	4,9	4,8	5,2	5,0	4,9	4,5	4,8	5,1
	6	4,8	4,2	4,9	5,6	5,2	5,4	4,3	5,2	4,9
	7	3,8	3,9	4,0	4,2	3,7	3,6	3,8	2,9	3,9

TABELLE 22
MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN - KONTROLLGRUPPE

	OH	24H	48H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GOT	13,25 ±2,60			12,25 ±2,38	14,75 ±2,12	23,5 ±9,10	18,36 ±3,46	16,86 ±1,73	15 ±4,31
GPT	21,0 ±6,05			21,86 ±7,57	21,63 ±7,50	21,75 ±7,42	22,38 ±6,19	21,13 ±6,20	21,5 ±4,11
CK	44,86 ±15,94			45,5 ±18,31	101,13 ±42,45	308,5 ±70,63	160,38 ±54,76	71,38 ±21,74	40,63 ±17,16
GLDH	4,18 ±1,11			4,09 ±1,15	4,23 ±1,12	4,7 ±1,78	3,79 ±1,11	3,71 ±1,27	3,8 ±1,34

TABELLE 23
MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN - VERSUCHSGRUPPE

	OH	24H	48H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GOT	12 ±4,12	11 ±2,38	12,29 ±3,55	12,43 ±4,54	12,71 ±4,42	17,71 ±5,71	14,29 ±3,82	12,14 ±4,22	12,29 ±3,20
GPT	22,86 ±6,54	23,86 ±7,58	23,57 ±8,60	23,57 ±7,76	22,43 ±5,59	22,14 ±4,95	21,0 ±7,23	21,71 ±6,29	21,29 ±5,56
CK	42,43 ±24,39	39,0 ±20,56	42,43 ±18,29	43,14 ±19,44	64,43 ±27,74	183,57 ±72,03	117,29 ±42,88	74,43 ±23,15	49,86 ±18,40
GLDH	3,9 ±1,09	3,96 ±0,57	4,05 ±0,67	4,03 ±1,16	3,86 ±0,96	4,1 ±1,13	3,7 ±0,69	3,91 ±0,85	4,04 ±0,74

ABBILDUNG 9

ENZYMAKTIVITÄTEN NACH SUBKUTANER INJEKTION VON
2.0 ML NaCl BZW. DIL.NR.96 UND DARAUFFOLGENDER
INJEKTION VON CHINOVETOL I.M.

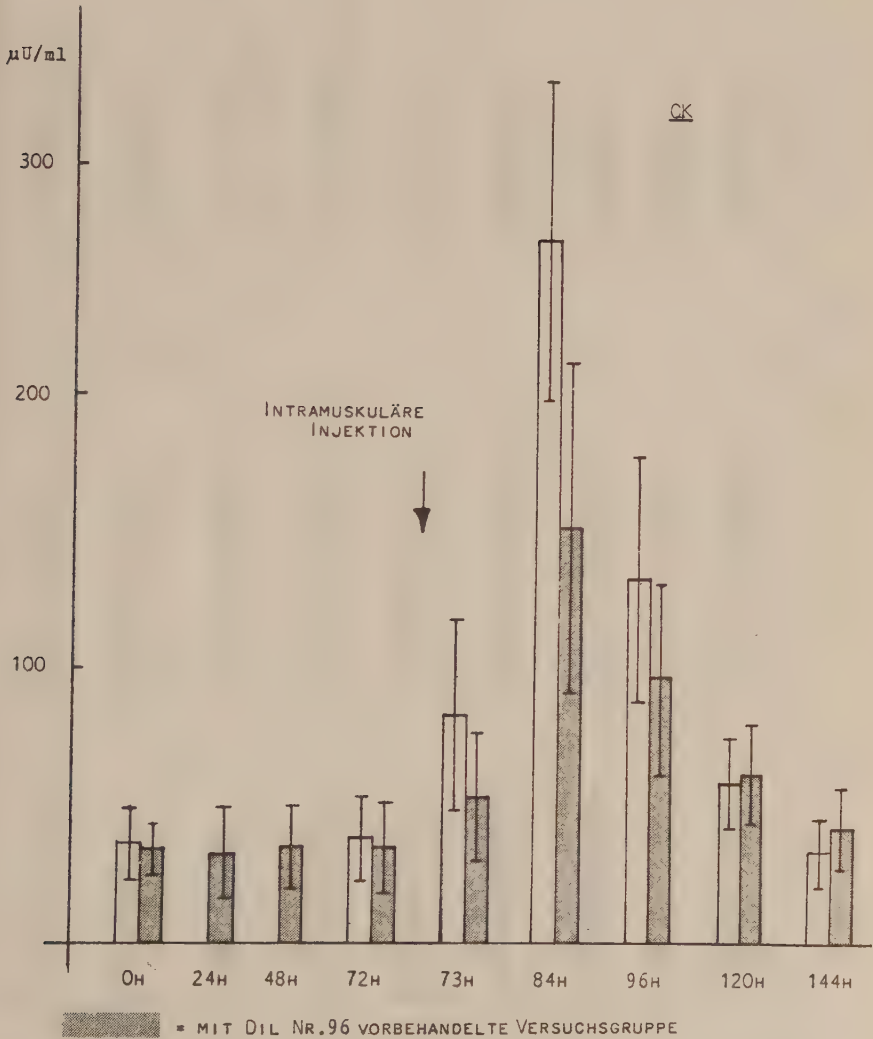


ABBILDUNG 9 (FORTSETZUNG)

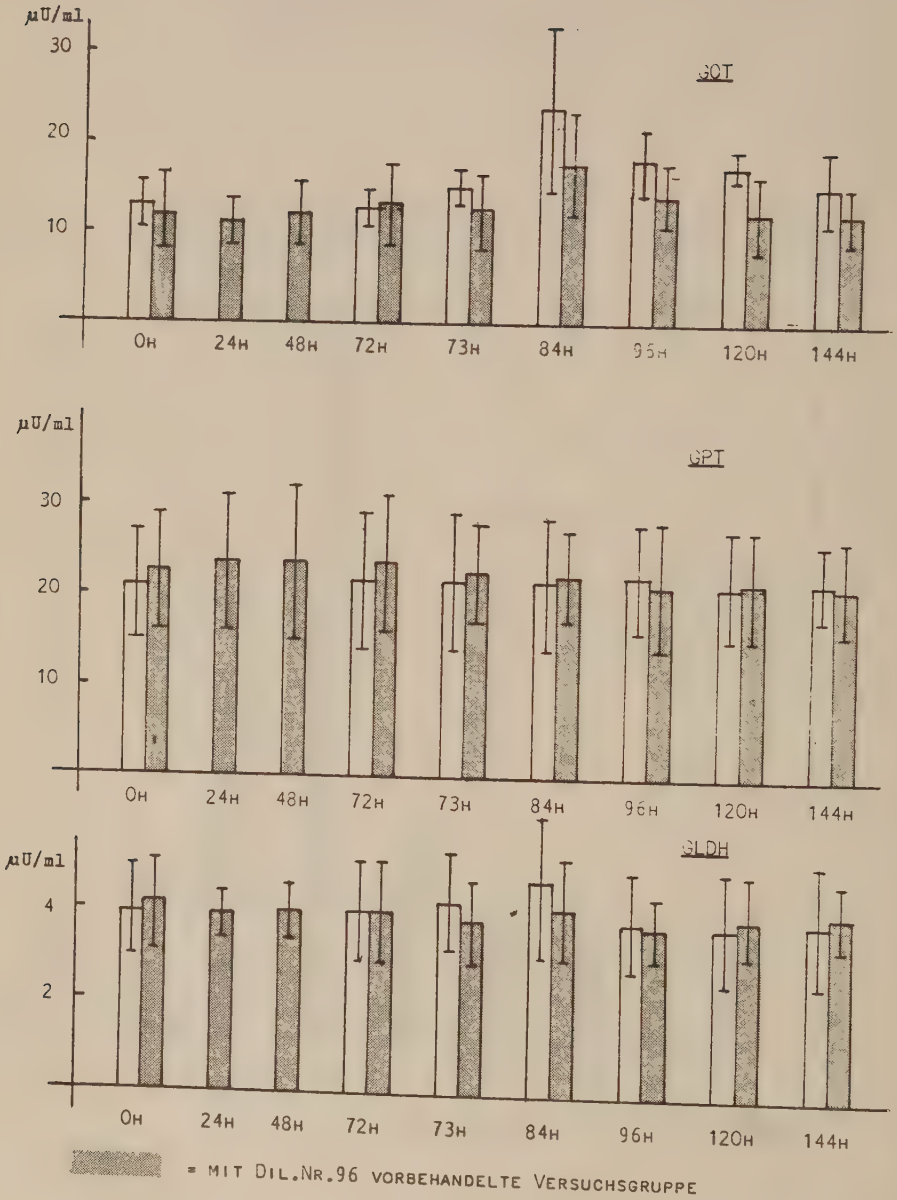


TABELLE 24

WERTE DER VERSUCHSGRUPPE BEZOGEN AUF DIE KORRESPONDIERENDEN WERTE DER VERSUCHSGRUPPE IN PROZENT.

GOT	0H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
1	61,54	81,82	58,33	100	64,28	57,14	75
2	100	100	80	78,95	81,25	46,67	80
3	170	222,22	130,77	68	63,64	84,21	114,29
4	40	50	56,25	72,73	66,67	56,25	68,75
5	108,33	110	83,33	54,55	63,64	66,67	80
6	123,08	130,77	60,22	65,91	95,45	88,89	133,33
7	87,5	75	55,75	87,5	89,47	100	82,35
GPT							
1	133,33	157,14	126,67	157,14	88,24	152,94	95,45
2	125,93	132	107,69	85,5	96,43	96,3	107,41
3	152,63	200	182,35	155,56	173,68	177,78	161,11
4	110	110,53	131,58	113,64	109,09	85	95,24
5	75	84,21	80	61,90	65	83,33	88,89
6	137,50	90,48	86,36	105,88	80,95	94,74	80,95
7	100	112,5	118,75	106,25	105,88	112,5	100
CK							
1	23,52	34,69	43,24	56,40	113,70	108,47	117,24
2	35	44,74	57,14	59,34	116,67	112,5	96,55
3	228	290,90	100	36,87	93,69	129,17	204,17
4	62,16	64,20	48,82	66,99	60,99	75,51	58,21
5	141,07	91,53	66,06	60,39	49,75	91,30	109,68
6	169,70	151,28	60,22	75,65	114,04	179,41	246,88
7	67,35	84,78	55,75	81,15	32,38	61,62	98,12
GLDH							
1	51,52	68,57	81,25	82,76	71,43	129,17	129,17
2	97,22	108,57	81,57	73,81	129,17	145,83	117,86
3	123,08	110,53	105,26	97,62	95	97,44	97,56
4	87,5	66,67	79,07	92,86	81,25	95,35	78,43
5	75	86,67	78,13	58,33	77,59	77,42	82,26
6	192	254,55	179,31	192,86	153,57	167,74	175
7	90,48	97,67	88,1	83,72	97,44	65,91	92,86

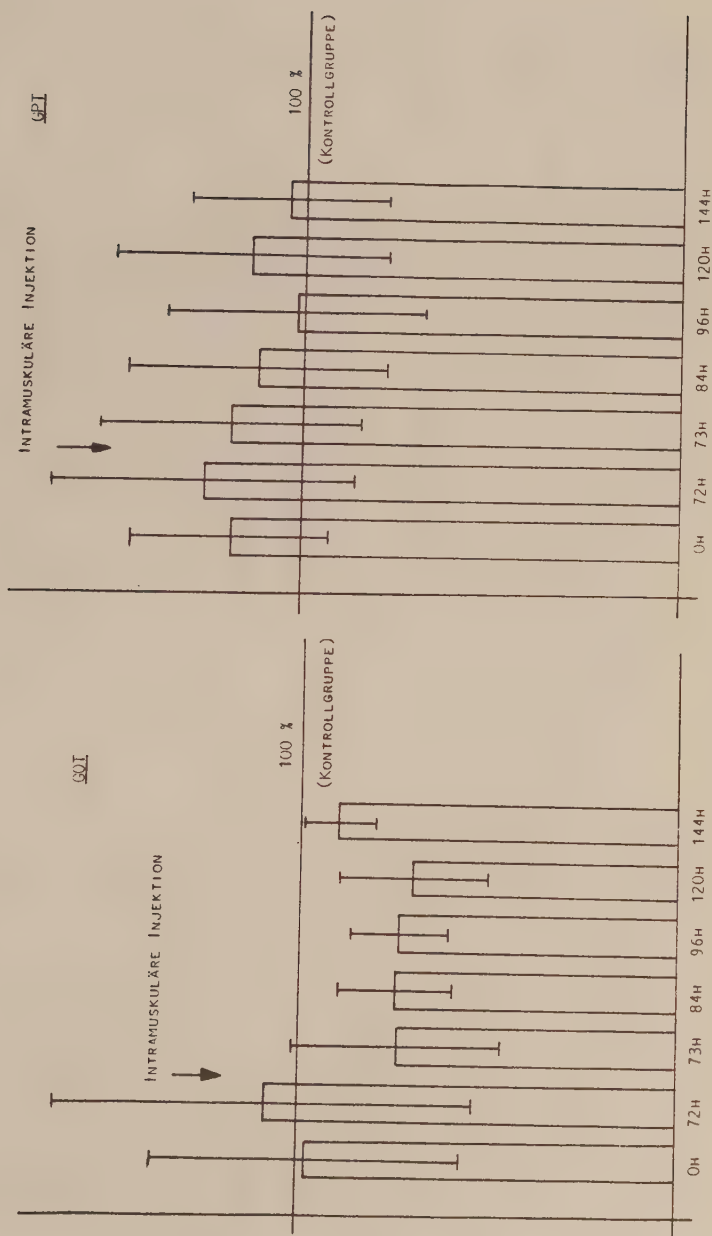
TABELLE 25

MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN DER PROZENTUALEN
RELATIVWERTE

0H	72H	73H	84H	96H	120H	144H
GOT						
98,64 ±42,28	109,97 ±55,89	74,95 ±27,15	75,37 ±15,00	74,91 ±13,60	71,40 ±19,81	90,53 ±9,51
GPT						
119,20 ±26,15	126,69 ±40,63	119,06 ±34,02	112,27 ±34,68	102,75 ±34,72	114,66 ±36,63	104,15 ±26,45
CK						
103,73 ±76,71	108,87 ±88,91	62,58 ±20,00	62,40 ±14,43	83,03 ±34,90	108,28 ±38,84	132,98 ±67,04
GLDH						
102,4 ±45,06	113,32 ±64,69	98,96 ±36,65	97,42 ±44,00	100,78 ±30,05	111,27 ±37,32	110,44 ±33,83

ABBILDUNG 10

MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN DER RELATIVIVWERTE



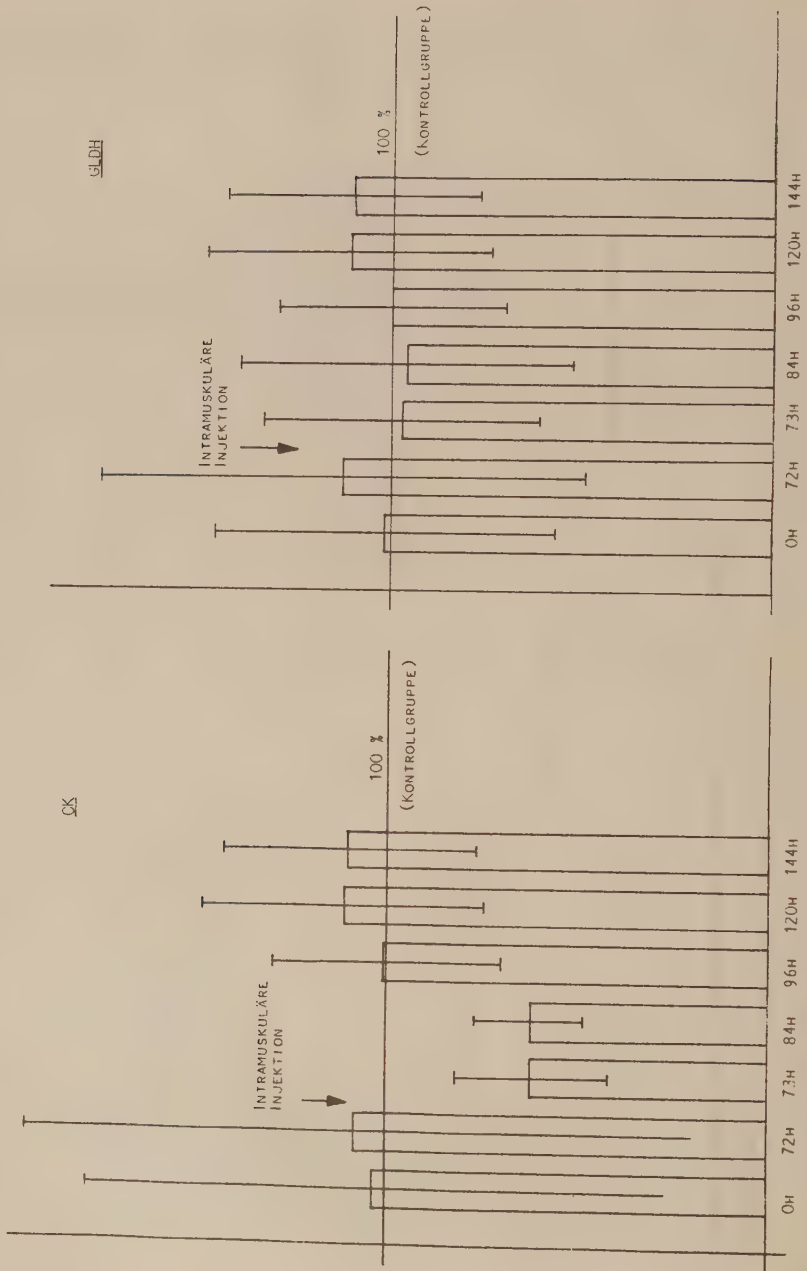


ABBILDUNG 10 (FORTSETZUNG)

4. DISKUSSION

4.1. ENZYMAKTIVITÄTSMESSUNGEN IN TROCKEN - SUBSTANZEN

Die Ergebnisse der erstmals von HEMPT (25) durchgeführten Versuche, Enzymaktivitäten in Trockensubstanzen zytoplasmatischer Präparate nachzuweisen, ließen bislang aufgrund der großen Heterogenität der Werte keine qualitativen oder quantitativen Aussagen zu, mit denen die biologische Aktivität der untersuchten Organlyophilisate erfaßt oder beschrieben werden könnte. Auch auf eine Organspezifität im Sinne einer mit den physiologischen Verhältnissen korrespondierenden Verteilung konnte nicht geschlossen werden. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Anzahl der untersuchten Präparate in den einzelnen Meßreihen unterschiedlich war, z.T. wurde nur eine Charge verwendet, unterschiedlich lange zentrifugiert, sowie Lösungen unterschiedlichen Trübungsgrades gemessen. Ziel eigener Untersuchungen war es daher zunächst, den Einfluß unterschiedlicher Arbeitsmethoden durch Wahl und Standardisierung eines geeigneten Verfahrens gering zu halten, sowie weitere Fehlerquellen aufzuzeigen und zu berücksichtigen. Im Hinblick auf die Aussagekraft der Ergebnisse wurde das Spektrum der untersuchten Präparate eingeengt auf Organe, die eine charakteristische Verteilung der Enzymaktivitäten aufweisen, das heißt solche, die nach den Untersuchungen von KLEIH (31), FLÜCKINGER (16), GERBER (17,18) und KELLER (30) relative Höchstaktivitäten eines Enzyms bei einer oder mehreren Tierarten aufweisen, also Herz (relativ höchste Aktivitäten der

GOT und GPT beim Schaf, der GOT beim Schwein), Leber (relativ höchste Aktivitäten der GLDH beim Schaf, der GLDH und SDH bei Schwein und Rind), Niere (relativ höchste Aktivität der AP beim Schwein), Skelettmuskulatur (relativ höchste Aktivität der CK beim Schwein, der GOT, GPT und CK beim Rind) und Plazenta (relativ höchste Aktivität der AP beim Rind), beziehungsweise solche, die in den weiteren Untersuchungen verwendet werden (Nr.96 Skelettmuskel - Myokard - Thymus - Rückenmark - Mischpräparat in 3.2. und 3.3.).

Um Hinweise auf Unterschiede zwischen und innerhalb verschiedener Chargen zu gewinnen wurde die Zahl der untersuchten Chargen sowie die Zahl der untersuchten Präparate gegenüber der HEMPT'schen Versuchsanordnung erhöht. Zur Prüfung verschiedener Lösungsverfahren waren Doppelbestimmungen in ein und derselben Ampulle nötig, sodaß auf die Bestimmung der SDH, die allein 1 ml Probe pro Untersuchung erfordert hätte, aus methodischen Gründen verzichtet wurde.

Die verschiedenen Lösungsverfahren wurden hinsichtlich auftretender Differenzen innerhalb der Probenpaare, der Mittelwerte sowie der Standardabweichungen verglichen.

4.1.1. EINFLÜSSE UNTERSCHIEDLICHER LÖSUNGS - VERFAHREN

Die Doppelbestimmungen nach Verfahren A (Inkubationszeit im Wasserbad 45 min, Zentrifugation) und B (mit zusätzlicher Filtration), Meßreihen 04,15,19 ergaben keine wesentlichen Unterschiede:

Die Differenzen innerhalb der korrespondierenden Werte betragen maximal $\pm 2 \mu\text{U/ml}$, Abweichungen wie sie auch bei Doppelbestimmungen gleich behandelter Testseren auftreten (Tab.8).

Die Differenzen zwischen den korrespondierenden Mittelwerten sind geringer als bei den anderen Verfahrensvergleichen (Tab.9).

Die Standardabweichungen sind durchweg niedrig und bei beiden Lösungsverfahren in etwa gleich groß (Tab. 7). Da der Überstand nach dem Zentrifugieren in allen Fällen klar war, erscheint die Filtration nach Verfahren B überflüssig.

Die Doppelbestimmungen nach Verfahren C₄₅ (Inkubationszeit im Wasserbad 45 min) und C₂₀ (verkürzte Inkubationszeit 20 min), Meßreihen 01,05,08 unterschieden sich hinsichtlich aller drei Kriterien:

Die Differenzen zwischen den korrespondierenden Einzelmeßwerten waren enorm (z.B. bis 113 bei der GOT, gegenüber maximal 2 beim Vergleich der Verfahren A/B und gegenüber maximal 43 beim Vergleich der Verfahren A/D s. Tab.8).

Die Differenzen zwischen den korrespondierenden Mittelwerten sind höher als bei den anderen Verfahrensvergleichen (z.B. bis 56,4 bei der GOT, gegenüber maximal 1,4 beim Vergleich A/B und gegenüber maximal 4,2 beim Vergleich A/D s.Tab.9).

Die Standardabweichungen liegen auf sehr unterschiedlichem Niveau (Tab.7).

Insgesamt wiesen die nur 20 min inkubierten Proben im allgemeinen geringere Enzymaktivitäten bei größerer Streuung auf. Dabei ist zu berücksichtigen, daß nach Abzug der ersten Probe eine geringere Lösungsmittelmenge zur Verfügung steht. Eine Inkubationszeit im Wasserbad von 20 min scheint aufgrund der besprochenen Ergebnisse nicht ausreichend.

Die Doppelbestimmungen nach den Verfahren A und D (zusätzliche Inkubationszeit der Doppelprobe von 6h bei 4°C und nochmaliges Zentrifugieren, Meßreihen 02,15,17) ergaben folgendes Bild:

Die Differenzen innerhalb der Einzelwertepaare sind deutlich höher als bei den Doppelbestimmungen nach den Verfahren A und B (bis 43 bei der GOT, bis 105 bei der GPT, bis 5,2 bei der GLDH (Tab.9)).

Die Differenzen zwischen den korrespondierenden Mittelwerten sind höher als bei den Verfahren A und B (Tab. 8), die Standardabweichungen zeigen sehr unterschiedliches Verhalten (Tab.7).

Die zum Teil höheren Enzymaktivitäten bei den zusätzlich 6 Stunden im Kühlschrank aufbewahrten Proben sind auf die längere Lösungsdauer zurückzuführen, während niedrigere Werte möglicherweise durch bereits auftretende geringfügige Aktivitätsverluste bedingt sind. Eine Verlängerung der Inkubationszeit erscheint daher nicht vorteilhaft.

Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch evtl. auftretende Aktivitätsverluste während der Inkubationszeit im Wasserbad (45 min) bei 25°C ist nach den Angaben von SCHMIDT (57) nicht zu erwarten (vgl. Tab.4).

Zusammenfassend ergibt sich, daß das Auflösungsverfahren entscheidenden Einfluß auf die Ergebnisse der Enzymaktivitätsbestimmungen in Revitorgan - Trockensubstanzen hat. Nur bei sorgfältigster Gewinnung aller Partikel und gleichbleibender Methode können vergleichbare Werte gewonnen werden.

Aufgrund der oben beschriebenen Ergebnisse der Doppelbestimmungen wurde für die weiteren Messungen nach Verfahren A gearbeitet. Die geringen, im Rahmen der Meßgenauigkeit liegenden Differenzen bei den Doppelbestimmungen (Meßreihen 04,06,07, Tab. 10), sowie die allgemein niedrigen Standardabweichungen innerhalb der einzelnen Chargen (Tab.7) lassen das Verfahren A als geeignete Methode für Enzymaktivitätsmessungen in Organlyophilisaten erscheinen.

4.1.2.

VERGLEICH DER UNTERSUCHTEN CHARGEN

Die innerhalb der einzelnen Chargen in je 5 Proben ermittelten Aktivitäten der untersuchten Enzyme bewegen sich in fast allen Meßreihen in gleicher Höhe (s. Standardabweichungen Tab.7).

Die Meßreihen, in denen die Standardabweichung die Nähe des Mittelwertes erreicht, fallen dadurch auf, daß sich die hier gemessenen Aktivitäten an der Grenze der Meßbarkeit um den Nullwert bewegen. Dies zeigte sich bereits bei der Versuchsdurchführung am Oszillieren der Extinktionsdifferenzen um 0. Betrachtet man die Reproduzierbarkeit der Meßwerte mehrerer Präparate der gleichen Charge als Ausdruck gleicher Herstellung, Einwaage, Abpackung, Auflösungs- und Meßmethode, so können die aufgezählten Einflußgrößen aufgrund der erzielten Ergebnisse als relativ konstant innerhalb ein und derselben Charge angesehen werden.

Große Differenzen treten allerdings beim Vergleich mehrerer Chargen des gleichen Präparats auf. Die Differenzen sind unterschiedlicher Art:

Zum einen zeigen die Meßwerte zweier verschiedener Meßreihen bei allen untersuchten Enzymen insgesamt verschiedenes Niveau. Zum anderen scheinen die einzelnen Enzyme in unterschiedlicher Art und Weise betroffen zu sein. Während sich die Mittelwerte z.B. der AP in allen Chargen einer Trockensubstanz in der gleichen Größenordnung bewegen, treten die eklatantesten Unterschiede bei der GLDH und bei der CK auf.

z.B.: GLDH $34,54 \pm 9,06$ in TS Nr.26/134 (Meßreihe 03)
 gegenüber $0,76 \pm 0,33$ in TS Nr.26/520 (Meßr.02)

z.B.: CK $1200,2 \pm 201,08$ in TS Nr.96/510 (Meßreihe 05)
 gegenüber $26,2 \pm 11,37$ in TS nr.96/101 (Meßr.06)

HEMPT (25) vermutete den Grund für zwischen zwei Chargen auftretende Unterschiede im unterschiedlichen Auflösungsvermögen sowie in der Herstellung der Präparate. Da das Herstellungsverfahren standardisiert ist (DBP 1090821) scheint diese Vermutung allenfalls auf eine mögliche Heterogenität der Ausgangsmaterialien zutreffend. Einflüsse unterschiedlicher tierartlicher Zusammensetzung sowie Unterschiede im physiologischen Funktionszustand der Ursprungsgewebe sind jedoch äußerst schwer quantifizierbar. Eine weitere, bisher nicht berücksichtigte Ursache für auftretende Diskrepanzen der meßbaren Enzymaktivitäten zwischen zwei verschiedenen Chargen stellen Aktivitätsverluste im Zusammenhang mit Lagerung und Weiterverarbeitung der fertigen Präparate dar. Vergleichswerte für die Aktivitätsverluste in lyophilisierten Organen über längere Zeiträume liegen nicht vor. Anhaltspunkte geben lediglich die Untersuchungen von SCHMIDT (57) über durchschnittliche Aktivitätsverluste bei Aufbewahrung von Serum über einen Zeitraum von 7 Tagen bei 4°C und 25°C. Danach sind bei der CK die geringsten (6% nach 7 Tagen bei 25°C), bei der GLDH weit höhere (30% nach 7 Tagen bei 25°C) Aktivitätsverluste zu erwarten (Tab.4). Daß Aktivitätsverluste, wenn auch in weit geringerem Ausmaß auch bei den untersuchten Trockensubstanzen anzunehmen sind, zeigen die Messungen 11,12 und 13 (TS Nr.3 Skelettmuskel), 09 und 10 (TS Nr.27 Niere), sowie 17 und 18 (TS Nr.6 Herz), die mit jeweils 6 Monaten Abstand durchgeführt wurden. In allen Fällen sind die Mittelwerte der späteren Aktivitätsmessungen bei allen untersuchten Enzymen deutlich niedriger als bei den ersten Messungen (Tab.7). Dieser Umstand erklärt möglicherweise auch die als Beispiel angeführte Diskrepanz der CK-Werte zwischen

Meßreihe 05 und 06: Das in 06 untersuchte Präparat war mindestens 5 Jahre alt oder älter (33). (Damals noch kein Herstellungs- bzw. Verfallsdatum angegeben) Ein Aktivitätsverlust während der Verarbeitung der Präparate im Versuch bis zur photometrischen Messung, insbesondere während der 45 minütigen Inkubation im Wasserbad, ist, zieht man die Angaben von SCHMIDT (57) für 24h bei 25°C als Vergleich heran, allenfalls für die GPT und die GLDH in Rechnung zu stellen. Zur Interpretation der ebenfalls als Beispiel angeführten hohen Schwankungen bei den GLDH - Werten scheint der Hinweis FLÜCKINGERS (16) in Bezug auf von BOGIN und SUMMER (7) erstellte Enzymaktivitätsprofile wichtig: In Abhängigkeit von der Zerkleinerungsmethode werden Mitochondrien in unterschiedlichem Maß zerstört, also auch mitochondriale Enzyme in unterschiedlicher Menge frei. Von der verwendeten photometrischen Enzymaktivitätsmessung werden jedoch lediglich die freigesetzten Enzymmoleküle erfaßt, nicht aber die in intakten Mitochondrien vorhandenen oder in anderen subzellulären Strukturen eingeschlossenen bzw. gebundenen Enzymmoleküle. Auch hier muß also deutlich zwischen meßbaren Enzymaktivitäten einerseits und dem Gehalt an funktionell erhaltenen Enzymen andererseits unterschieden werden. Nach FLÜCKINGER (16) schränken weitere Faktoren die Genauigkeit von Enzymaktivitätsmessungen in Organen ein, u.a. Blut- und Bindegewebsanteil sowie physikalische und chemische Optima der Enzyme. Die bei dem THEURER'schen Verfahren angewandte schonende Hydrolyse beeinflusst möglicherweise die Verfügbarkeit von Enzymen für die Bestimmung mit den verwendeten Testansätzen bei den Enzymen, die ein relativ

Molekulargewicht besitzen bzw. bei denen, die aus mehreren Untereinheiten bestehen (CK Molekulargewicht 81 000, 2 Untereinheiten; GLDH Molekulargewicht 2 200 000, 8 Untereinheiten) (5), da durch das Hydrolyseverfahren die Partikelgröße erniedrigt wird (61), also große Enzymmoleküle in ihre Untereinheiten zerfallen können und dann von den verwendeten Testansätzen bei der Enzymaktivitätsmessung möglicherweise nicht mehr oder in unterschiedlichem Maße erfaßt werden können.

Aufgrund der beschriebenen Einflüsse und der dadurch bedingt auftretenden Unterschiede zwischen den einzelnen Chargen ist es nicht sinnvoll, jeweils das arithmetische Mittel der je 3 Chargen zur Beurteilung der relativen Organverteilung in den untersuchten Trockensubstanzen heranzuziehen. Ebensowenig ist es sinnvoll das arithmetische Mittel aus den von den verschiedenen Autoren (16,17,19,30,31) an verschiedenen Tierarten gewonnenen Organverteilungsprofile zu bilden, um damit der Tatsache Rechnung zu tragen, daß für die Herstellung der Revitorgan-Trockensubstanzen verschiedene Tierarten verwendet werden. Um dennoch einen Vergleich der in den Organlyophilisaten gemessenen Enzymaktivitäten bezogen auf die relativen Enzymverteilungsmuster in den Organen der Haustiere zu ermöglichen, wurden in Anlehnung an die von KELLER(30) und GERBER (17,18) verwendeten Auswertungsmethoden die höchsten gefundenen Mittelwerte der einzelnen Enzymaktivitäten (Tab.7) als 100% angenommen, die weiteren in Relation dazu berechnet (Tab.11). Die Ergebnisse wurden, graphisch schematisiert, den Enzymverteilungsmustern bei Rind, Schaf und Schwein gegenübergestellt (Abb.1).

Selbstverständlich läßt dieses Auswertungsverfahren keine objektive Beurteilung der Kongruenz der in den Organlyophilisaten gefundenen Enzymverteilungsmuster mit den von FLÜCKINGER (16), KELLER (30), KLEIH (31) beschriebenen Enzymaktivitätsprofilen zu. Wird die Vergleichbarkeit der einzelnen Chargen durch die oben genannten Einflußgrößen gemindert, so wird die Vergleichbarkeit der von den genannten Autoren angegebenen Relativwerte dadurch eingeschränkt, daß weder das Spektrum der untersuchten Enzyme (KLEIH gibt keine Werte für die CK und AP beim Schaf an), noch das Spektrum der untersuchten Organe (KELLER untersucht als einziger die Enzymaktivitäten in Plazentomen beim Rind) in den drei Arbeiten übereinstimmt.

Die erstellte graphische Darstellung (Abb.1) dient lediglich als grob schematisierende Vergleichsgrundlage, aus der sich allerdings Tendenzen erkennen lassen: Geringe Übereinstimmung zeigt das Bild der Transaminase - Aktivitäten. Während in den Trockensubstanzen die höchsten Aktivitäten der GOT und GPT in Leber (TS Nr.26) gefunden wurden, sind es vor allem Skelettmuskel und Herz, die bei den Haustieren die höchsten Transaminase - Aktivitäten aufweisen. So deckt sich das für die GOT gefundene Verteilungsmuster in Trockensubstanzen weit besser mit dem des Schweines, als mit denen von Rind und Schaf.

Ein inverses Bild zeigen die Enzymaktivitätsprofile der GLDH. Dieses, bei allen untersuchten Tierarten als leberspezifisch geltendes, mitochondriales Enzym weist in den untersuchten Organlyophilisaten hohe Aktivitäten nicht nur in Leber, sondern vor allem in foetaler Plazenta (TS Nr.71) auf. Ob dieser Sachverhalt lediglich auf die bereits angeführten Fehlerquellen, die ja vor allem bei der GLDH als einem aus

mehreren Untereinheiten bestehenden Enzym mit hohem Molekulargewicht (MG 2 200 000) ins Gewicht fallen könnten, zurückgeführt werden kann, ist fraglich. Der sehr niedrige Vergleichswert für ganze Plazentome beim Rind (Tab.1) scheint dagegenzusprechen.

Neben den hohen GLDH - Werten treten in den untersuchten Lyophilisaten foetaler Plazenta auch hohe Aktivitäten der AP und der GPT auf. Betrachtet man den Gehalt an meßbaren Enzymaktivitäten als allgemeines Kriterium für die biologische Aktivität der untersuchten Arzneimittel (25), so können diese Ergebnisse möglicherweise im Zusammenhang mit den beschriebenen differenzierten Wirkungen der Zubereitungen aus foetaler und maternaler Plazenta (61) gesehen werden.

Große Übereinstimmung zeigen die gefundenen Enzymaktivitätsprofile im Falle der CK und AP. Die deutlich höchsten gemessenen Enzymaktivitäten der CK finden sich sowohl bei Rind, Pferd, Schaf und Schwein wie bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Organlyophilisate in Skelettmuskulatur bzw. TS Nr.3 (Tab.7,11). Die mit Abstand höchsten Aktivitäten der AP wurden in Plazenta bzw TS Nr.71 und Niere bzw. TS Nr.27 (Tab.7,11) gemessen. Auch die Größenordnungen in denen sich die Aktivitäten der CK und AP in den anderen Organen bewegen, decken sich.(Abb.1).

Neben der Diskussion der Einflußgrößen und Fehlerquellen bei Enzymaktivitätsmessungen in aufgeschlossenen Organtrockensubstanzen und den diskutierten Beziehungen der in den untersuchten Organlyophilisaten gemessenen Enzymaktivitäten zu den Verteilungsmustern bei den einzelnen Tierarten, ist die tatsächliche Höhe der gemessenen Enzymaktivitäten in Bezug auf Serumenzymaktivitätsänderungen nach Applikation zytoplasmatischer Substanzen beim Hund (s.3.2) von Interesse.

Es stellt sich die Frage, ob eine rein additive Beeinflussung der Serumenzymaktivitäten nach Applikation von Organlyophilisaten in der verwendeten Dosierung zu erwarten ist. Da sich die gemessenen Enzymaktivitäten in den Trockensubstanzen fast aller untersuchter Chargen in der Größenordnung der physiologischen Serumenzymaktivitäten (13) bewegen, läge in den meisten Fällen eine rein additive Beeinflussung der Serumenzymaktivitäten auch bei Vernachlässigung der resorptiven Verzögerung bei der intramuskulären Injektion, sowie der Halbwertszeit der Enzyme im Serum jenseits der Meßbarkeit. Bei einigen Chargen (z.B. Meßreihe 05, TS Nr.96: CK $1200,2 \pm 201,09$ uU/ml Tab.7) kann jedoch eine mögliche Erhöhung der Serumenzymaktivitäten durch die Applikation von Trockensubstanzen nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

4.2. SERUMENZYMAKTIVITÄTEN UND BLUTWERTE NACH APPLIKATION ZYTOPLASMATISCHER SUBSTANZEN

Nach den Untersuchungen von HELLER (24), die Aktivitätssteigerungen der CK und der LDH nach dreimaliger subkutaner Injektion von Dil.Nr.96 an Ratten fand, und den Mitteilungen von THEURER (61), der Revitorgan-Trockensubstanzen neben einer geringen antigenen Reizwirkung und einer unspezifischen Reizwirkung über Streßmechanismen eine spezifische Direktwirkung auf die homologe Organzelle zuschreibt, sollte untersucht werden, ob die Verabreichung eines homologen, lyophilisierten Organpräparates eine Steigerung organspezifischer Enzyme zur Folge hat. Da die subkutane Injektion von 1,0 ml Dil.Nr.96 nach der Arbeit HELLERS (24) einen stärkeren Aktivitätsanstieg der GOT, CK und LDH zur Folge hatte als die intramuskuläre Injektion von 1,0 ml physiologischer Kochsalzlösung oder 0,5 ml Leukomycin stellte sich auch die Frage ob und inwieweit eine Beeinflussung von Laborparametern durch Applikation zytoplasmatischer Substanzen, ähnlich wie bei der Applikation anderer Medikamente (66) zu erwarten ist.

Versuch I wurde graphisch ausgewertet (Abb.2). Weder die Injektion von Dil.Nr.26 noch von Dil.Nr.71 bewirkte deutliche Aktivitätssteigerungen. Die gemessenen Enzymaktivitäten liegen fast ausnahmslos im Normbereich (Tab.2). Hinweise auf signifikante Schwankungen während der Versuchszeit traten nicht auf.

Versuch II erstreckte sich über einen Zeitraum von 5 Tagen. Auch hier bewegten sich die gemessenen Enzymaktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH und AP im

Bereich der physiologischen Normwerte (Tab.2). Signifikante Schwankungen traten nicht auf, auch nicht nach der intramuskulären Injektion von TS Nr. 26 (Abb. 3). Anders als in den Untersuchungen von HELLER (24) führte auch die subkutane Injektion von Dil.Nr.96 an 3 aufeinanderfolgenden Tagen nicht zu meßbaren Enzymaktivitätszunahmen.

Auch in Versuch III bewegen sich die gemessenen Enzymaktivitätszunahmen innerhalb der physiologischen Werte (Abb.4). Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Untersuchungen von HELLER an Ratten durchgeführt wurden und die verabreichte Dosis 1,0 ml betrug, während in der vorliegenden Arbeit die therapeutische Dosis von 2,0 ml beim Hund verwendet wurde. Wenn auch eine rein additive Beeinflussung der Serumenzymaktivitäten, zumal bei Verabreichung von 1 ml einer Verdünnung von 10^{-6} , nicht zu erwarten ist, so ist doch die Verabreichung von 1 ml eines Präparates mit Aluminiumhydroxid- und Kieselsäurezusatz, bzw. Laurylnatriumsulfatzusatz mit größerer Alteration an der Injektionsstelle verbunden als die Injektion physiologischer Kochsalzlösung. Ebenso dürfte die intramuskuläre Injektion von 1 ml eines Präparates in den Muskel der Ratte zu größeren mechanisch und durch vorübergehende lokale Reizwirkung bedingten Alterationen, und damit zu stärkerer Freisetzung zellulärer Enzyme führen als die Injektion von 2 ml desselben Präparates in die Muskulatur eines 10 - 20 kg schweren Hundes.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen aus Versuch II zeigen auch die Ergebnisse aus Versuch IV keine signifikanten Veränderungen der Serumenzymaktivitäten (Abb.5). Auch hier bewegen sich die gemessenen Werte im physiologischen Bereich. Puls, Körpertemperatur, Hämatokrit und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit zeigen keine sinnfälligen Veränderungen (Abb.5).

Eine Beeinflussung des weißen Blutbilds ergibt sich aus den Werten der Leukozytenzählung und der Differentialblutbilder. Die Gesamtleukozytenzahl stieg während der Versuchszeit von $6740 \pm 651,34$ auf $7770 \pm 658,22$ (Abb.7), begleitet von einem geringfügigen Sinken der segmentkernigen, neutrophilen Granulozyten zugunsten eines Anstiegs der Lymphozytenzahl (Abb.8). Dies kann möglicherweise im Sinne des von THEURER beschriebenen antigenen Reizes interpretiert werden. Dafür spricht auch die von MAYR und BUSCHMANN in mehreren Arbeiten an verschiedenen Modellen nachgewiesene Stimulation der Immunozyten (10,40). Allerdings liegt die Gesamtleukozytenzahl nach dem Anstieg noch immer im physiologischen Bereich, der beim Hund wesentlich weiter gefaßt ist als bei anderen Haustieren, da das System der zellulären Abwehrmechanismen häufiger und schneller reagiert (13). Auch die Verschiebung innerhalb des Differentialblutbilds scheint zu gering um weitergehende Interpretationen zuzulassen, da eine statistische Signifikanz nicht zu belegen ist.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Enzymaktivitätsmessungen nicht geeignet sind, organspezifische Reizwirkungen der verwendeten Präparate, die sich in Enzyminduktion, Anregung des Zellstoffwechsels, Veränderung der Membranpermeabilität, Steigerung der Durchblutung etc. äußern könnten, in Form von Serumenzymaktivitätssteigerungen am gesunden Hund nachzuweisen. Dies gilt für die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Präparate in der angegebenen Dosierung beim gesunden Hund. Auch ergibt sich kein Hinweis auf eine mögliche Beeinflussung der klinischen Verlaufskontrolle durch Veränderung der untersuchten Laborwerte nach Applikation

zytoplasmatischer Substanzen.

Inwieweit sich "organspezifische Reizwirkungen" (61) makromolekularer Organpräparate beim kranken Hund möglicherweise in Form von Veränderungen meßbarer Serumenzymaktivitäten manifestieren und damit von der klinischen Verlaufskontrolle erfasst werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht und kann aufgrund der am gesunden Hund erzielten Ergebnisse nicht beurteilt werden.

4.3. SERUMENZYMAKTIVITÄTEN NACH EXPERIMENTELLEM MUSKELTRAUMA BEI HUNDEN

Die Traumatisierung der Muskulatur durch Injektion lokal reizender Präparate führt zum Freiwerden zellulärer Enzyme und damit zu deren Übertritt ins extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen. Die dadurch verursachten Serumenzymaktivitätssteigerungen sind in Bezug auf Höhe und Dauer von verschiedenen Faktoren abhängig. ZINK (66) untersuchte Serumenzymaktivitätssteigerungen nach intramuskulärer Injektion von Vitamin ADE oleosum, Leukomycin, Catosal und physiologischer Kochsalzlösung und weist auf unterschiedliche Enzymaktivitätssteigerungen hin, die besonders deutlich und schnell anhand der CK - Aktivitäten nachzuweisen waren.

Neben den chemischen Eigenschaften des Präparates ist die injizierte Menge, Größe und Beschaffenheit der Muskulatur, nicht zuletzt aber auch das zirkulierende Flüssigkeitsvolumen sowie die Art und Geschwindigkeit der Resorptions- und Reparationsvorgänge an der Injektionsstelle ausschlaggebend für Höhe und Dauer der Enzymaktivitätsänderungen.

Präparat, Tierart und Injektionsstelle konnten bei dem bereits von H.KRAFT (32) und HELLER (24) verwendeten Modell in der vorliegenden Versuchsanordnung konstant gehalten werden (0,1 ml/kgKG). Der Einfluß der dadurch bedingten möglicherweise unterschiedlichen rein mechanischen Alteration des Gewebes an der Injektionsstelle auf die Ergebnisse dürfte verhältnismäßig gering sein, da sich die Tiere in Kontroll- und Versuchsgruppe paarweise entsprechen. Bei der Auswertung der Meßergebnisse wurden neben den Mittelwerten und Standardabweichungen (Tab. 22,23) auch die Relativwerte mit Mittelwerten und Standardabweichungen (Tab. 24,25) errechnet, wobei die Werte der

Kontrollgruppe gleich 100% gestzt wurden.

Währen der ersten 72 Stunden der Versuche, in denen der Kontrollgruppe dreimal im Abstand von je 24h 2,0 ml physiologischer Kochsalzlösung subkutan, der Versuchsgruppe dreimal 2,0 ml Dil.Nr 96 injiziert wurden, blieben die Mittelwerte der untersuchten Serum-enzymaktivitäten (GOT, GPT, CK, GLDH) in beiden Gruppen weitgehend konstant und im Rahmen der physiologisch auftretenden Werte (Tab. 22, 23). 72h nach Versuchsbeginn wurde beiden Gruppen 0,1 ml/kgKG des Gemischs ätherischer Öle intramuskulär injiziert. Bei den Messungen 73, 84, 96, 120 und 144h nach Versuchsbeginn ergibt sich folgendes Bild:

Während sich die Mittelwerte der GPT und GLDH weiterhin mit geringfügigen Schwankungen im Bereich der vor Versuchsbeginn und vor der intramuskulären Injektion des lokal reizenden Präparates gemessenen Werte bewegen, erreicht der Mittelwert der CK-Aktivitäten der Kontrollgruppe 1h nach der intramuskulären Injektion bereits $101,13 \pm 42,45$ gegenüber $64,43 \pm 27,74$ in der Versuchsgruppe. 11h später erreichte der Mittelwert der Versuchsgruppe $308,5 \pm 70,63$ (84h) um dann auf $160,38 \pm 54,76$ (96h), $71,38 \pm 21,74$ (120h) und schließlich auf $40,64 \pm 17,16$ (144h) und damit wieder in den Bereich physiologischer CK-Serumaktivitäten zu sinken (Tab. 22). Ähnlichen Verlauf zeigen die in der Versuchsgruppe auftretenden Mittelwerte der CK-Aktivitäten, wobei allerdings mit $183,57 \pm 72,03$ (84h) ein wesentlich niedrigeres Maximum erreicht wird (Tab. 23). Der Verlauf der Ergebnisse der CK-Aktivitätsbestimmungen wurde in Abb. 9a graphisch dargestellt.

Ein ähnliches, wenngleich weniger deutliches Verhalten zeigt der Verlauf der GOT-Aktivitäten. Hier überschreitet jedoch lediglich der Mittelwert 84h

nach Versuchsbeginn (12h nach der intramuskulären Injektion) in der Versuchsgruppe die physiologischen Werte der GOT - Serumaktivitäten beim Hund.

Zusammenfassend ergibt sich, daß bei der Kontrollgruppe nach Traumatisierung der Muskulatur durch die Injektion ätherischer Öle ein Anstieg der CK - Aktivität bis über 400 μ U (Tab.20) und eine Steigerung der GOT - Aktivität über den Normbereich hinaus auftraten, während in der Versuchsgruppe deutlich niedrigere Steigerungen (Tab. 21) sowie eine frühzeitigere Normalisierung der CK- und GOT- Aktivitäten nachzuweisen waren. Dieses Ergebnis läßt sich nach Errechnung der Relativwerte statistisch sichern. Dabei wurden die Ergebnisse der Kontrollgruppe gleich 100% gesetzt, die korrespondierenden Werte der Versuchsgruppe darauf bezogen (Tab.19). Die Resultate wurden in Abb.10 graphisch dargestellt. Eine Beeinflussung der Serumenzymaktivitätszunahmen nach Traumatisierung der Muskulatur durch die Injektion ätherischer Öle konnte durch die subkutane Injektion von Dil.Nr.96 nur im Falle der CK und GOT, deren klinische Bedeutung u.a. im Bereich der Diagnostik von Myopathien liegt (13), nachgewiesen werden. Die Serumenzymaktivitäten der GPT und GLDH, deren klinische Bedeutung bes. in der Diagnostik von Hepathopathien liegt (13), wiesen in keiner der beiden Gruppen signifikante Abweichungen gegenüber den Ausgangswerten auf.

Die Beteiligung einer rein additiven Beeinflussung durch die Applikation zytoplasmatischer Substanzen an den gefundenen Enzymaktivitätsänderungen im Verlauf der Versuche scheint aufgrund der in 4.1.2. besprochenen Ergebnisse unwahrscheinlich.

Anders als in den Versuchen HELLERS (24) trat keine Steigerung der Aktivitäten muskelspezifischer Enzyme in der mit Dil Nr.96 vorbehandelten Versuchsgruppe

vor der Verabreichung des lokal reizenden Gemisches ätherischer Öle auf. Auch eine weitere Steigerung der Aktivitäten muskelspezifischer Enzyme in der mit Dil.Nr96 vorbehandelten Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe konnte, abweichend von HELLERS Ergebnissen, nicht nachgewiesen werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Dosierung von 1 ml Chinovetol pro Ratte die in der vorliegenden Arbeit verwendete Dosierung nach Körpergewicht (0,1 ml/kgKG) um ein Vielfaches übersteigt und die rein mechanisch bedingte, sowie durch lokale Reizwirkung hervorgerufene Alteration am Rattenmuskel dadurch sicher ungleich größer war. Eine Interpretation der gewonnenen Ergebnisse im Sinne einer günstigen Beeinflussung der Reparations- und Resorptionsvorgänge an der Injektionsstelle kann ohne weitere histologische und biochemische Untersuchungen nur mit Vorsicht in Betracht gezogen werden.

Die gegenüber der mit phys. Kochsalzlösung vorbehandelten Kontrollgruppe geringere Aktivitätssteigerungen in der Versuchsgruppe kann nicht mit einer eventuell geringeren Vulnerabilität beziehungsweise verbesserten Heilungstendenz des traumatisierten Gewebes gleichgesetzt werden. Zum einen sind meßbare Serumenzymaktivitäten Ausdruck eines Fließgleichgewichts, an dem neben der lokalen Freisetzung von Enzymen aus zerstörten Zellen zahlreiche weitere Faktoren, wie die Zusammensetzung und Zirkulationsrate des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens, Vaskularisation des betroffenen Gewebes, Phagozytoseleistung, Elimination aus dem Serum etc. beteiligt sind, zum anderen ist eine zeitliche Dissoziation der Resorptions- beziehungsweise Reparationsvorgänge an der Injektionsstelle zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe möglich.

5. SCHLUSSBETRACHTUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere Einzelfragen in Bezug auf Gehalt und Wirkung der bei der zytoplasmatischen Therapie nach MEURER verwendeten Organlyophilisate insbesondere im Zusammenhang mit Enzymaktivitäten in Organtrockensubstanzen und der Beeinflussung von Serumenzymaktivitäten und Blutwerten nach Verabreichung zytoplasmatischer Substanzen beim Hund bearbeitet. Die durchgeführten Untersuchungen führten zu Ergebnissen, deren Diskussion und Interpretation eine abschließende Wertung schwierig erscheinen lassen.

Was die Verwendung der Enzymaktivitätsmessung als Kriterium für die Beurteilung von Revitorgan-Trockensubstanzen betrifft (3.1., 4.1.), so ergibt sich zusammenfassend, daß sie allenfalls qualitative Aussagen hinsichtlich einer biologischen Aktivität, was den Gehalt an funktionell erhaltenen Zellbestandteilen anbelangt, nicht jedoch quantifizierbare Aussagen zulassen.

Aufgrund der in 3.2. und 4.2. beschriebenen Untersuchungen von Serumenzymaktivitäten und Blutwerten nach Applikation zytoplasmatischer Substanzen ergab sich kein Hinweis auf eine statistisch nachweisbare Beeinflussung der untersuchten Parameter beim gesunden Hund. Übereinstimmend mit den Erfahrungen aus anderen sog. biologischen Therapieformen, die ihre Wirkung erst beim Vorliegen pathologischer Zustände entfalten, kann daraus kein Schluß auf die Wirksamkeit der verwendeten Präparate beim kranken Hund gezogen werden.

Dafür sprechen auch die Ergebnisse der in 3.3. und 4.3. beschriebenen Versuche, bei denen durch lokale Reizung der Muskulatur erzeugte Enzymaktivitätssteigerungen durch die Applikation eines zytoplasmatischen Präparates beeinflusst werden sollten. Die dabei

ermittelten Differenzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe belegen zwar die Beeinflußbarkeit von Aktivitätssteigerungen in der verwendeten Versuchsanordnung, lassen jedoch keine Schlußfolgerungen auf den zugrundeliegenden Wirkungsmechanismus zu.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Mehrere Präparate, wie sie bei der zytoplasmatischen Therapie mit makromolekularen Organextrakten nach THEURER verwendet werden, wurden hinsichtlich ihrer Enzymgehalte sowie hinsichtlich einer möglichen Beeinflussung von Serumenzymaktivitäten und Blutwerten nach Verabreichung solcher Substanzen beim Hund unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Dabei wurden dreierlei Versuchsanordnungen verwendet:

1. Von insgesamt 19 Chargen verschiedener Organlyophilisate wurden in je 5 Proben die Aktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH und AP bestimmt.
2. Insgesamt 9 klinisch gesunden Hunden wurden nach Bestimmung der Serumenzymaktivitäten in mehreren Versuchen Dilutionen und Trockensubstanzen zytoplasmatischer Präparate einmal bzw. mehrmals verabreicht. In verschiedenen Meßreihen wurden die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK, GLDH, SDH, AP bestimmt. Bei 5 Hunden wurden zusätzlich Puls, Temperatur, Hämatokrit, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, Leukozytenzahl und Differentialblutbild verfolgt.
3. 8 Hunden (Kontrollgruppe) wurde nach dreitägiger Verabreichung von 2 ml NaCl phys. bzw. nach dreitägiger Verabreichung von 2 ml Revitorgan Dil.Nr.96 (Versuchsgruppe) 0,1 ml/kgKG eines vorübergehend lokal reizenden Gemisches ätherischer Öle i.m. injiziert. Die Serumenzymaktivitäten der GOT, GPT, CK und GLDH wurden bis 144h nach Versuchsbeginn verfolgt.

Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet und diskutiert.

SUMMARY

Several preparations, as used in the cytoplasmatic therapy with macromolecular organ extracts (THEURER) were examined with regard to enzyme contents as well as with regard to a possible influence on serum enzyme activities and blood values after the application of such substances to the dog. Three different experimental set ups were used:

1. The activities of GOT, GPT, CK, GLDH and AP were determined in 5 samples of a total of 19 charges of different lyophilized preparations.
2. In several experiments cytoplasmatic preparations were applied once or several times to 9 clinically healthy dogs after the determination of the serum enzyme activities. The values of GOT, GPT, CK, GLDH, SDH, AP were determined through different measurements. In addition the puls, temperature, hematocrit, blood sedimentation rate, number of leucocyts and blood count were observed.
3. 0.1 ml/kg of a temporarily and locally irritating mixture of essential oils was injected i.m. in 8 dogs after a 3 day application of 2 ml NaCl phys. (control group) and after a 3 day application of 2 ml Revitorgan Dil.Nr.96 (experimental group). The serum enzyme activities of GOT, GPT, CK and GLDH were observed for 144 hours after the beginning of the experiment.

The results were statistically evaluated and discussed.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTMANN,H.,WOTTOWA,A.: In: Tagungsbericht, 20. Jahrestagung über die zytoplasmatische Therapie. 16, Stuttgart 1974
2. ARZNEIMITTELGESETZ,DEUTSCHES: §3,3
BGBl. I,2445 (1978)
3. AXMANN,G.: Untersuchungen zur organotropen Wirkung von zellulären Extrakten auf die Proteinsynthese in vivo.Diplomarbeit.Institut für Therapeutische Biochemie der Universität Frankfurt.Frankfurt 1973
4. BARTHOLD,S.: Erfahrungen mit der zytoplasmatischen Therapie in einer Kleintierpraxis.
Kleintierpraxis 24,35 - 37,(1979)
5. BERGMAYER,H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse.Verlag Chemie,Weinheim 1974
6. BERNIS,S.: Untersuchungen zur Wirkung einer zellspezifischen Substanz auf die experimentell geschädigte Rattenleber.Diss.med.vet. München 1962
7. BOGIN,E.,SUMMER,H.: Enzyme Profile of Heart and Skeletal Muscles,Liver and Kidney of Cows and Pigs.Zbl.Vet.Med. A 23,394 - 400,(1976)
8. BUDDECKE,E.: Grundriß der Biochemie.4.Auflage.
De Gruyter Verlag,Berlin 1974

9. BUNDESÄRZTEKAMMER, WISS. BEIRAT: Stellungnahme zur sog. Zellulärtherapie. D. Ärzteblatt 27, 8, (1976)
10. BUSCHMANN, H., MAYR, A.: Expertise über Ergebnisse der Überprüfung von Revitorgan - Dilutionen bezüglich phagozytosesteigernder Eigenschaften sowie der Stimulierung hämolysinbildender Zellen in der Milz. München 1971
11. BYRNE, -; zit. nach: THEURER, K.: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie. Leitfaden. Stuttgart 1979
12. DREIER, H. K.: Behandlung von Haarkleid- und Hautveränderungen mit Hilfe der Gegsensensibilisierung und zytoplasmatischen Präparaten. Kleintierpraxis 25, 98, (1980)
13. DÜRR, U. M., KRAFT, W.: Kompendium der klinischen Laboratoriumsdiagnostik bei Hund, Katze, Pferd. Verlag Schaper, Hannover 1975
14. EPSTEIN, B.: Immunotherapie von spontan auftretenden Dermatosen bei Hunden. Gaceta Veterinaria XXXIX, No. 319, (1977), Buenos Aires, Argentinien
15. FISCHER, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung zellspezifischer Substanzen auf die experimentell geschädigte Rattenleber. Diss. med. vet. München 1960
16. FLÜCKINGER, M.: Enzymaktivitäten im Serum und Organen des jungen Schweines. Zbl. Vet. Med. A 24, 195 - 204, (1977)

17. GERBER, H.: Aktivitätsbestimmungen von Serum-
enzymen in der Veterinärmedizin. III. Eigene Un-
tersuchungen bei Pferden. A. Alkalische Serum-
phosphatase. Schweiz. Arch. Tierheilk. 106, 354 -
371, (1964)
18. GERBER, H.: B. Bestimmung der GOT, GPT und CK-
Aktivitäten in einigen Organen des Pferdes als
Grundlage für die klinische Verwendung von
Serumenzymaktivitätsbestimmungen. Schweiz. Arch.
Tierheilk. 106, 410 - 413, (1964)
19. GERBER, H.: Enzymdiagnostik. In: SCHEBITZ, H.:
Allgemeine Chirurgie. Verlag Parey, Berlin und
Hamburg 1975
20. GRAUL, E., RÜTHER, W., STEINER, B.: Die Bearbeitung
zytoplasmatischer Probleme unter Verwendung von
Radioeweißkörpern. Med. Klinik, 691 - 694, (1964)
21. HAPKE, H.-J.: Homöopathie und Pharmakologie.
collegium veterinarium 1979, 94 f., Schlüter'sche
Verlagsanstalt, Hannover 1980
22. HARPER, H.: Review of Physiological Chemistry.
Lange, Los Altos, California 1975
23. HAUSER, K.W.: Indikationen der zytoplasmatischen
Therapie beim Vogel. collegium veterinarium 1977
118, Schlüter'sche Verlagsanstalt, Hannover 1978
24. HELLER, M.: Die Veränderung muskelspezifischer
Enzyme im Zusammenhang mit der intramuskulären
Verabreichung von Medikamenten bei Tieren.
Diss. med. vet. München 1973

25. HEMPT,M.: Die praktische Anwendung der zytoplasmatischen Therapie und Gegsensensibilisierung bei Hauterkrankungen der Hunde und Enzymaktivitätsuntersuchungen bei zytoplasmatischen Substanzen. Diss.med.vet. München 1977
26. HEUER.R.: Revitorgan-Dilutionen in der Kleintierpraxis.Kleintierpraxis 19,59-60,(1974)
27. HOPPE-SCHAUPP,E.-M.: Die Anwendung der Gegsensensibilisierung und der zytoplasmatischen Therapie beim Tier.Diss.med.vet. München 1972
28. HUMPHREY,J.H.,WHITE,G.: Kurzes Lehrbuch der Immunologie.Thieme Verlag.Stuttgart 1971
29. JACHERTS,D.,JACHERTS,B.,UND MAY,G.: Prüfung der Wirksamkeit von Organextrakten an einem zellfreien System von Hela-Zellen.Med.Klinik,58, 752-754,(1963)
30. KELLER,P.: Serumenzyme beim Rind: Organanalysen und Normalwerte.Schweiz.Arch.Tierheilk. 113, 615-626,(1971)
31. KLEIH,W.: Untersuchungen über den Serumenzymgehalt bei gesunden und stoffwechselkranken Schafen in der peripartalen Periode und bei Lämmern unter Berücksichtigung der enzootischen Muskeldystrophie.Diss.med.vet. München 1974
32. KRAFT,H.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die therapeutische Wirkung zytoplasmatischer Substanzen.Erfahrungsheilkunde XXI,6,165-170,(1972)

33. KRAFT,H.: Persönliche Mitteilung,Dez.1979
34. KRAFT,H.: Verabreichung zytoplasmatischer Substanzen.collegium veterinarium 1977,112, Schlüter'sche Verlagsanstalt,Hannover 1978
35. LANGHANS,U.: Versuche über die Wirkung von Revitorgan-Präparaten auf das durch Röntgenstrahlen und Zytostatika geschädigte blutbildende Gewebe.Diss.med.vet. München 1966
36. LETNANSKY,K.: Versuche zur Charakterisierung eines tumorspezifischen Inhibitors aus dem mütterlichen Anteil der Rinderplazenta.Österr.Z. Onkologie 4,42-46,(1977)
37. LETNANSKY,K.,WRBA,H.: zit.nach: THEURER,K.: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie,Leitfaden, vitOrgan-Arzneimittelfabrik,Stuttgart 1979
38. MAYERSBACH,H.V.: Experimentell erzeugte Nephritis bei Ratten.Vitorgan-Informationen,Ruit/Stuttgart 1970
39. MAYERSBACH,H.V.: zit.nach: THEURER,K.: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie,Leitfaden. vitOrgan-Arzneimittelfabrik,Stuttgart 1979
40. MAYR,A.: Expertise über die Stimulierung von endogenem Interferon beim Kaninchen durch vitOrgan-Präparate.München 1975
41. MISSEL,W.: Untersuchungen zur Anwendung von Organ-Dilutionen nach der Pyometraoperation bei der Hündin.Diss.med.vet. München 1966

42. NEITZEL, F.: Die Anwendung der zytoplasmatischen Therapie und der Gegensensibilisierung bei Pferden mit subakuten und chronischen Erkrankungen der oberen Luftwege und der Lunge. Diss. med. vet. München 1977
43. NIEHANS, P.: Die Zellulärtherapie. Verlag Urban und Schwarzenberg, München 1954
44. PETER, H.: Wissenschaftliche Grundlagen der zytoplasmatischen Therapie und der Gegensensibilisierung. In: Die zytoplasmatische Therapie mit Revitorgan-Präparaten und die Gegensensibilisierung in der Veterinärmedizin. 3. Hrsg.: vitOrgan-Arzneimittelfabrik, Stuttgart 1976
45. PETER, H.: Die praktische Anwendung der zytoplasmatischen Therapie. collegium veterinarium 1977
116. Schlüter'sche Verlagsanstalt, Hannover 1978
46. PFAFFENHOLZ, V., THEURER, K.: Einfluß von makromolekularen Organsubstanzen auf menschliche Zellen in vitro. Kassenarzt 27, 5218-5226, (1978)
47. PODROUZEK, -. : zit. nach: THEURER, K.: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie, Leitfaden. vitOrgan-Arzneimittelfabrik, Stuttgart 1979
48. ROLLE, M., MAYR, A., E. A.: Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler. Verlag Enke, Stuttgart 1978
49. RONNEBERGER, H.: Behandlung von Alterskrankheiten beim Hund mit zytoplasmatischen Substanzen. Tierärztl. Umsch. 17, 428, (1962)

50. RÜSSE, M. U. H. KRAFT: Unterschiede der Zellulärtherapie (Frisch- und Trockenzellen) gegenüber der makromolekularen zytoplasmatischen Therapie. Praktische Tierarzt 2,559, (1976)
51. RÜSSE, M.: zit.nach: Tagungsbericht von der XI. Jahrestagung über die zytoplasmatische Therapie und die Methoden der Serum-Desensibilisierung. Hrsg.: Theurer, K., Stuttgart 1965
52. SAERS, K.-J.: Versuche über die Wirkung zytoplasmatischer Substanzen auf die experimentell geschädigte Kaninchenschilddrüse. Diss.med.vet. München 1970
53. SAMBRAUS, H.-H.: Untersuchungen über die Wirkung der Gegensensibilisierung und zytoplasmatischen Substanzen auf die calciphylaktisch bedingte Sklerodermie der Albinoratte. Diss.med.vet. München 1965
54. SCHACHTEL, E.: Über die Wirkung zytoplasmatischer Substanzen im in-vitro-Versuch. Diss.med.vet. München 1968
55. SCHLOSSAREK, U.: Praxiserfahrungen mit der zytoplasmatischen Therapie in der Kleintierpraxis. collegium veterinarium 1975, 116 ff. Schlüter'sche Verlagsanstalt, Hannover 1976
56. SCHMIDL, M.: Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle. Boehringer, Mannheim 1978
57. SCHMIDT, E., SCHMIDT, F.W.: Kleine Enzym-Fibel Praktische Enzymdiagnostik. Boehringer, Mannheim 1976

58. SORKIN,E.: Expertise über die Wirkung von Revitor-
ganpräparaten auf die Antikörperproduktion.Davos 1969
59. STEFFEN,C.: Allgemeine und experimentelle Immu-
nologie und Immunpathologie.Thieme Verlag,Stutt-
gart 1968
60. THEURER,K.: Entwicklung und Wesen der makromole-
kularen Organotherapie und der Immunsuppression
durch Antikörper.collegium veterinarium 1977,110
Schlüter'sche Verlagsanstalt,Hannover 1978
61. THEURER,K.: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie,
Leitfaden.vitOrgan-Arzneimittelfabrik,Stuttgart 1979
62. WANDERKA,H.A.: Verhütung von Wachstums- und Ent-
wicklungsstörungen bei Salamanderlarven und -jung-
tieren durch Wirkstoff- und Organ-Kombinations-
präparate.Prakt.Tierarzt 6,324-328,(1974)
63. WIGGE,B.: Untersuchungen über die Wirkung organ-
spezifischer Substanzen auf die Spätfolgen der
im Experiment geschädigten Lebern von Albino-
ratten.Diss.med.vet.München1974
64. WRBA,H.: Messung der Stoffwechselaktivität über
die Phosphorylierungsaktivität an Gewebekulturen
von embryonalen Rattenlebern mit radioaktivem Phos-
phat.vitOrgan-Informationen,Ruit/Stuttgart 1970
65. WRBA,H..GEIPEL,-.: zit,nach: THEURER,K.: 25 Jahre
zytoplasmatische Therapie,Leitfaden.vitOrgan-
Arzneimittelfabrik.Stuttgart 1979

66. ZINK, W.: Die Veränderung der Aktivitäten muskelspezifischer Enzyme im Serum im Zusammenhang mit der intramuskulären Verabreichung von Medikamenten bei Hunden. Diss. med. vet. München 1978

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof.Dr.H.Kraft für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit recht herzlich danken.

Dem Vorstand der Medizinischen Tierklinik, Herrn Prof.Dr.W.Kraft möchte ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes, Herrn Prof.Dr.Theurer, Fa. vitOrgan, für die Überlassung der verwendeten Präparate meinen Dank aussprechen.

LEBENS LAUF

12.06.1956	Heinz Wolfgang Strobel Geboren in Günzburg/Donau Vater: Anton Strobel Mutter: Gertrud Strobel, geb. Schröttle
1962 - 1966	Besuch der Maria - Theresia - Schule in Günzburg
1966 - 1975	Besuch des Dossenberger - Gymnasiums in Günzburg
21.6.1975	Abitur
1975 - 1981	Studium der Tiermedizin an der Tier- medizinischen Fakultät der LMU München
14.7.1979	Eheschließung mit Bärbel Mettenleiter
21.5.1981	Approbation als Tierarzt

